

# 大村湾産有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の 二枚貝への影響と増殖特性

山砥 稔文,<sup>1\*</sup> 坂口 昌生,<sup>1</sup> 松田 正彦,<sup>1</sup>  
岩永 俊介,<sup>1</sup> 岩瀧 光儀,<sup>2</sup> 松岡 敷充<sup>2</sup>

(2004年6月24日受付, 2005年2月14日受理)

<sup>1</sup>長崎県総合水産試験場, <sup>2</sup>長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター

Effect on bivalve molluscs of a harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* isolated from Omura Bay, Japan and its growth characteristics

TOSHIFUMI YAMATOJI,<sup>1\*</sup> MASAO SAKAGUCHI,<sup>1</sup> MASAHIKO MATSUDA,<sup>1</sup>  
SHUNSUKE IWANAGA,<sup>1</sup> MITSUNORI IWATAKI<sup>2</sup> AND KAZUMI MATSUOKA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, <sup>2</sup>Institute for East China Sea Research, Nagasaki University, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, Japan

*Heterocapsa circularisquama* is a red-tide forming dinoflagellate causing mass mortality of bivalve molluscs in Western Japan. Bioassay on bivalve molluscs was made using two strains of *H. circularisquama* isolated from Omura Bay, Nagasaki Prefecture in 1999 and 2002. Pearl oyster *Pinctada fucata* died within 2–3 days after being exposed to 5,000 cells/mL of *H. circularisquama*. Short-neck clam *Ruditapes philippinarum* died within 4–6 days after being exposed to 5,000 cells/mL of *H. circularisquama*. The growth characteristics of *H. circularisquama* isolated from Omura Bay in 1999 were examined in 54 different combinations of temperature (10–30°C) and salinity (16–36) under a light intensity of 80 μmol/m<sup>2</sup>/s. *H. circularisquama* reproduced at 12.5–30°C and 16–36 in salinity. The highest growth rate was obtained at 30°C and 32 in salinity. Under the conditions, maximum specific growth rate was 0.91 day<sup>-1</sup>. The effect of light intensity on the growth of *H. circularisquama* was examined at seven different conditions ranging from 10 to 140 μmol/m<sup>2</sup>/s under 14 h light and 10 h dark cycle and 25°C. *H. circularisquama* grew well at a light intensity of 20 μmol/m<sup>2</sup>/s and higher, then the growth was saturated at 80 μmol/m<sup>2</sup>/s. Under the conditions of this experiment, the half-saturation constant for growth of light intensity (*K<sub>s</sub>*) and threshold value (*I<sub>o</sub>*) were 24.0 μmol/m<sup>2</sup>/s and 15.5 μmol/m<sup>2</sup>/s, respectively. The occurrence of *H. circularisquama* in Omura Bay, Imari Bay and Tachibana Bay was confirmed in the present study by observation of body scale structures.

キーワード : *Heterocapsa circularisquama*, 赤潮, 大村湾, 二枚貝, 比増殖速度

渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* による赤潮は、西日本沿岸海域においてしばしば発生し、近年、多発化・広域化する傾向にある。<sup>1-2)</sup> 本種は魚類に対する影響はほとんどないが、二枚貝等の貝類を特異的に斃死させ、水産業に多大な被害を及ぼしている。<sup>3-10)</sup> 赤潮被害防止のためには、本種の毒性、増殖特性、分布状況等の基本的な情報を把握することは重要である。

本種赤潮による漁業被害は、細胞密度およそ 4,000 cells/mL 以上で引きおこされることが知られている。<sup>8,9)</sup>

本種の毒性には地域差があることや海水が着色しないような低密度でも二枚貝に影響を及ぼすことが明らかとなってきた。<sup>8)</sup> 貝類養殖が盛んに行われている長崎県大村湾では本種は 1995<sup>11)</sup> と 1999 年<sup>12)</sup> に、それぞれ最高細胞密度 48,000 と 3,700 cells/mL の赤潮を記録したが、いずれも漁業被害は報告されていない。西日本で最高細胞密度が 10,000 cells/mL をこえた本種赤潮は 10 例以上あるが、<sup>8)</sup> 漁業被害が報告されていないのは唯一大村湾のみである。また、赤潮発生機構解明の基礎となる増殖

\* Tel : 81-95-850-6316. Fax : 81-95-850-6374. Email : yamatogi@marinelabo.nagasaki.nagasaki.jp

特性については、数例の報告<sup>2,13,14)</sup>がある。しかし、赤潮種の増殖特性は培養株が分離された海域ごとに差異があり得る<sup>15)</sup>ので、原因種の基本的増殖特性を海域ごとに把握する必要がある。さらに、最近、本種と形態的に酷似する種の存在が報告され、<sup>16)</sup>同定が困難な場合があり、正確な識別には細胞表面を覆う鱗片の形態を電子顕微鏡で観察する必要がある。<sup>17)</sup>

本種の出現は、全国第2位の真珠生産量のある長崎県にとって脅威であり、また同様に有明海の水産振興上重要なアサリ増養殖にとっても憂慮される。近隣の福岡県<sup>3,5)</sup>や熊本県<sup>18)</sup>では本種赤潮による二枚貝の斃死が確認されており、本種の分布拡大が懸念される。本研究では、長崎県大村湾で分離した培養株が貝類斃死をもたらす細胞密度を把握し、また、本株の増殖に及ぼす水温、塩分および光強度の影響を明らかにした。さらに、長崎県沿岸域で貝類養殖が行われている海域を中心に、本種の出現動態を正確に把握するため、細胞表面の鱗片形態に基づいて種同定を行い、本種の分布についても知見を得たので、併せて報告する。

#### 材料および方法

**供試株と培地** 大村湾の試水から1999年9月に99o1株、2002年8月にOM8-ND12株を分離した。これらはいずれもピペット洗浄法および泳がせ法<sup>19)</sup>により洗浄し、クローン株とした。供試株の保存および実験培地にはESM<sup>20)</sup>を用いた。なお、これら2株については常法<sup>16)</sup>に従って透過型電子顕微鏡（JEOL製JEM1010）による鱗片観察結果に基づき種の同定を行った（Fig. 1）。

**H. circularisquama 培養株がアコヤガイの生残に及ぼす影響** 実験には、OM8-ND12株と99o1株を用いた。OM8-ND12株については、ガラスフィルター

(GF/C)ろ過した海水（塩分34.0）で、0, 500, 1,000, 5,000, 10,000 cells / mLの密度に調整し、500 mL容ビーカーに400 mL入れた。これらの海水に長崎県総合水産試験場で生産し、当水試棧橋に垂下していた殻長 $13.1 \pm 1.3$  mmのアコヤガイ *Pinctada fucata* を4個体ずつ収容した。99o1株については、GF/Cろ過した飼育海水（塩分34.6）で、0, 500, 1,000, 5,000 cells / mLの密度に調整し、500 mL容ビーカーに300 mL入れた。これらの海水に当水試で生産・飼育していた殻長 $0.82 \pm 0.12$  mmのアコヤガイを30個体ずつ収容した。観察は4日間行い、アコヤガイの挙動の変化および生残の有無を観察した。生死の判別は外套膜をピンセットで強く刺激し、閉殻運動の有無で確認した。環境水は毎日全量交換し、*H. circularisquama*の細胞密度を初期設定値に調整した。飼育は水温22.5°C、光強度40 μmol/m<sup>2</sup>/s、14時間明、10時間暗の明暗サイクルの条件下で行った。通気は実験期間を通じて、本種細胞の破壊が生じない程度（約10 mL/min.）に調節した。

**H. circularisquama 培養株がアサリの生残に及ぼす影響** 実験には、OM8-ND12株と99o1株を用い、それぞれGF/Cろ過海水（塩分34.0）で、0, 1,000, 5,000, 10,000 cells / mLの密度に調整し、500 mL容ビーカーに450 mL入れた。これらの海水に、OM8-ND12株の実験では殻長 $31.6 \pm 2.0$  mm, 99o1株の実験では殻長 $31.4 \pm 1.8$  mmのアサリ *Ruditapes philippinarum* を3個体ずつ収容した。供試したアサリは有明海小長井町地先で採取し、当水試で砂ろ過海水により実験まで数日間静置飼育していた。観察は8日間行い、アサリの挙動の変化および生残の有無を観察した。生死の判別は外套膜をピンセットで強く刺激し、閉殻運動の有無で確認した。環境水は毎日全量交換し、細胞密度を初期設定値に調製した。水温は、アサリを採取した現場水温に合わせ、20°Cと25°Cの2区に設定した。光条件、通気はアコヤガイの斃死実験と同様にした。

**増殖に及ぼす水温と塩分の影響** 実験には99o1株を用いた。1995年7月に五島西沖約60 km (32°55.5'N, 128°15.5'E)で採取した表層水をGF/Cでろ過し、基礎海水（塩分34.4）とした。水温は10, 12.5, 15, 17.5, 20, 22.5, 25, 27.5, 30°Cの9段階、塩分は16, 20, 24, 28, 32, 36の6段階とし、それらを組み合わせて計54通りに設定した。塩分については、前述の基礎海水を超純水で希釀、あるいは50°Cに保たれた恒温器を用いた加温濃縮によって調整した。実験は、ガラス性の試験管（φ15 × 150 mm）に培地を5 mL入れ、オートクレーブ滅菌後（120°C, 20 min.）に、保存培地で対数増殖期後期まで前培養された本株を100 cells / mLの密度になるように実験培地へ接種し、3本法、バッチ培養法で、光強度80 μmol/m<sup>2</sup>/s、14時間明、10時間暗の明暗サイク

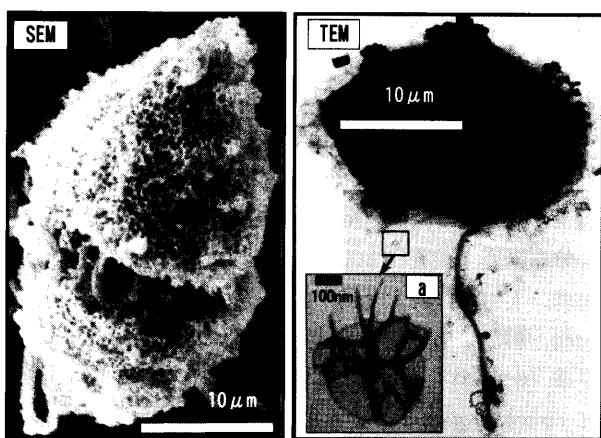


Fig. 1 SEM (left) and TEM (right) photographs of *Heterocapsa circularisquama* (99o1 strain) collected from Omura Bay. a, body scale.

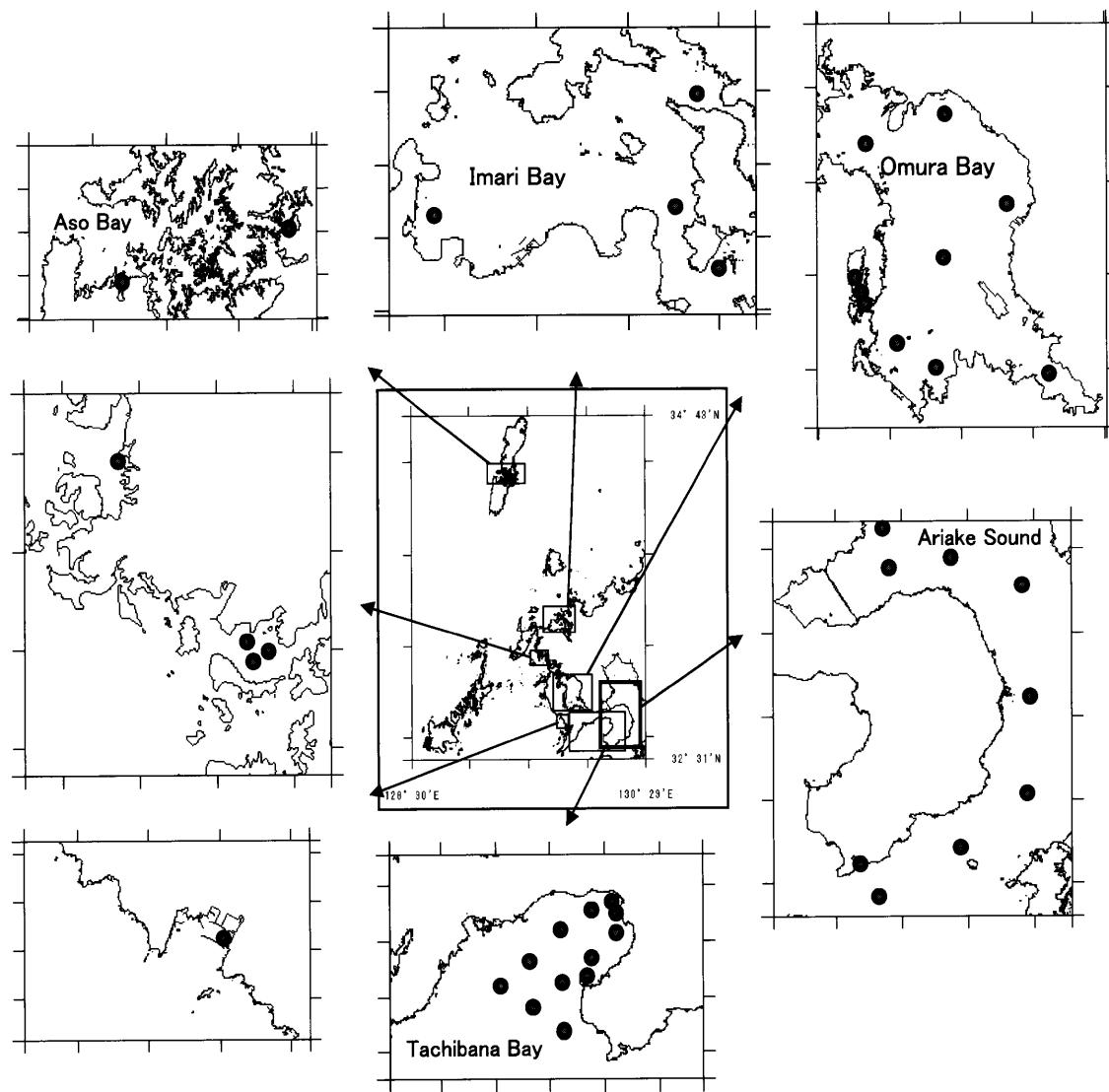


Fig. 2 Sampling stations (●) in coastal waters of Nagasaki Prefecture.

ルの条件下で行った。なお、前培養条件は水温 17.5°C および 22.5°C、塩分 28 とした。培養温度は 1 日に 1~2.5°C ずつ上昇あるいは下降させ、実験開始後 2 日以内に各実験温度へ移行した。細胞密度は実験開始後 2 日おきに培養液の一部を採取し、界線入りスライドグラスを用いて直接計数し、片対数グラフにプロットし、その直線部分である対数増殖期について、最小二乗法により比増殖速度 ( $\mu$ ; day<sup>-1</sup>) を求めた。また、定常期の最高細胞密度から初期細胞密度を差し引いた値を最終細胞収量とした。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 実験には、9901 株を用いた。光強度は 10, 20, 40, 80, 100, 120, 140  $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  の 7 段階に、水温は 25°C、塩分は 32 に設定した。水温・塩分実験と同様の方法により比増殖速度および最終細胞収量を求めた。なお、初期細胞密度は 500 cells/mL とした。また、比増殖速度と光強度の関係は以下の(1)式による双曲線で記述した。

$$\mu = \mu_m \frac{I - Io}{(Ks - Io) + (I - Io)} \quad (1)$$

ここで、 $\mu$  は比増殖速度 (day<sup>-1</sup>)、 $I$  は光強度 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )、 $Io$  は光強度の閾値 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ )、 $\mu_m$  は最大比増殖速度 (day<sup>-1</sup>)、 $Ks$  は半飽和定数で  $\mu_m/2$  を与える光強度 ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) をそれぞれ示す。(1)式から、反復計算アルゴリズム (Levenberg-Marquardt 法)<sup>21)</sup> により、最大比増殖速度 ( $\mu_m$ )、増殖の半飽和定数 ( $Ks$ ) および光強度の閾値 ( $Io$ ) を求めた。

**分布調査** 調査は 2002 年 1~12 月に、長崎県の伊万里湾、大村湾、九十九島、西彼杵半島沿岸、浅茅湾、三浦湾、橋湾、有明海に設定した定点（計 42 定点）で、夏季（6~9 月）を中心にして概ね月 1~2 回の頻度で、*H. circularisquama* の栄養細胞密度を調べた (Fig. 2)。採水は原則として水深 2 m 層で、必要に応じて 0.5, 5, 10, B-1 m (海底面上 1 m) 層でも行った。採取した試水中の本種と予想される栄養細胞について、必要に応じ

て当日から翌々日までに研究室で透過型電子顕微鏡によって鱗片を観察し、種の同定を行った。

## 結 果

*H. circularisquama* 培養株がアコヤガイの生残に及ぼす影響 99o1 株を用いて行った斃死実験結果を Fig. 3 に示す。実験開始 3 時間後には、500~5,000 cells/mL の実験区に共通してアコヤガイには本株を擬糞として排出する行動がみられ、500 cells/mL では 50% の個体で外套膜、鰓の収縮が、1,000~5,000 cells/mL では 73~87% の個体で外套膜、鰓の収縮および刺激に対する閉殻動作が緩慢となる麻痺症状が観察された。アコヤガイの斃死は 5,000 cells/mL では 6 時間後、1,000 cells/mL では 16 時間後、500 cells/mL では 24 時間にみられた。斃死率は暴露時間の経過とともに増加し、実験開始から 3 日後に 5,000 cells/mL で 100% の個体が、500 および 1,000 cells/mL では 4 日後までにそれぞれ 83 および 87% の個体が斃死した。

OM8-ND12 株を用いて行った斃死実験結果を Fig. 4 に示す。アコヤガイは実験開始直後から、500~10,000 cells/mL の実験区に共通して異物混入時に生じる開閉運動 (clapping)<sup>22)</sup>を開始し、その頻度は数回/分であった。対照区 (0 cells/mL) では、clapping は確認されなかった。アコヤガイの斃死は 5,000~10,000 cells/mL の実験区では、実験開始から 24 時間にみられた。斃死率は時間の経過につれて増加し、2 日後には 100% の個体が斃死した。斃死前には麻痺症状が観察された。0~1,000 cells/mL 実験区では 4 日後まで斃死はみられなかった。

*H. circularisquama* 培養株がアサリの生残に及ぼす影響 99o1 株を用いた斃死実験結果を Fig. 5 に、OM8-ND12 株を用いた斃死実験結果を Fig. 6 に示す。20°C ではアサリは 10,000 cells/mL で実験開始から 3~4 日後、5,000 cells/mL で 4~5 日後に斃死がみられ、6 日後には 5,000~10,000 cells/mL で 100% の個体が斃死した。0~1,000 cells/mL では 8 日後まで斃死はみられなかった。25°C では 10,000 cells/mL で実験開始から 3~4 日後、5,000 cells/mL で 4 日後に斃死がみられ、5 日後には 5,000~10,000 cells/mL で 100% の個体が斃死した。1,000 cells/mL では実験開始から 5~6 日後に斃死がみられ、8 日後には 100% の個体が斃死した。対照区 (0 cells/mL) では 8 日後まで斃死はみられなかった。斃死したアサリは斃死する 1~2 日前に刺激に対する閉殻動作が緩慢となる麻痺症状や殻内からひも状の粘質物質をはき出す症状を示した。両温度で両株に共通して、5,000~10,000 cells/mL では実験開始直後に閉殻状態が観察された。

増殖に及ぼす水温と塩分の影響 各水温・塩分条件に

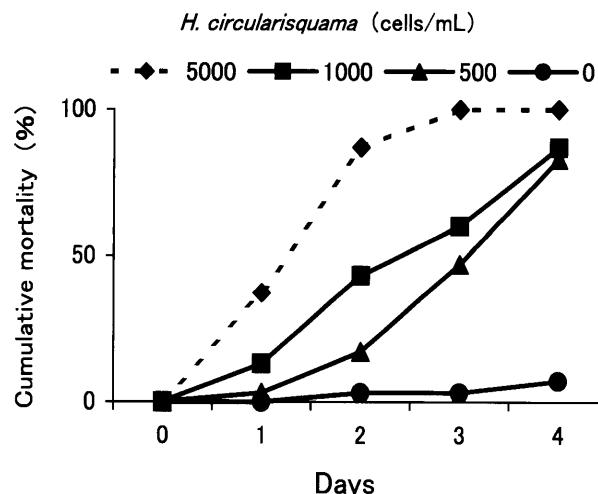


Fig. 3 Effect of *Heterocapsa circularisquama*, 99o1 strain, on the survival of *Pinctada fucata* ( $N=30$ , shell length  $0.82 \pm 0.12$  mm).

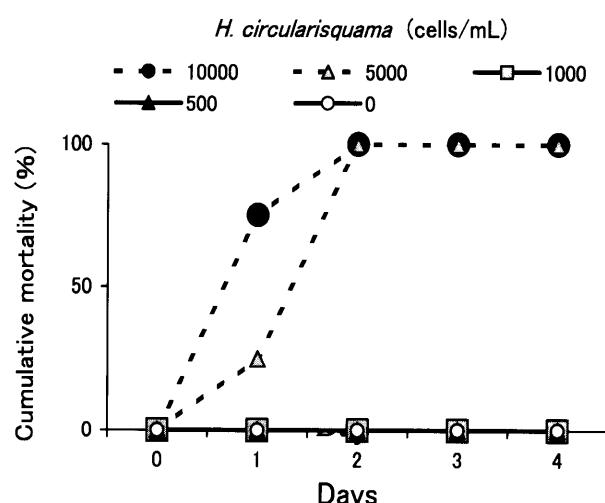


Fig. 4 Effect of *Heterocapsa circularisquama*, OM8-ND12 strain, on the survival of *Pinctada fucata* ( $N=4$ , shell length  $13.1 \pm 1.3$  mm).

における 99o1 株の増殖曲線を Fig. 7 に示す。10°C ではすべての塩分で増殖がみられなかったが、遊泳細胞は塩分 28~36 で 10 日間観察された。12.5°C では、高塩分の 32~36 で 4~8 cells/mL の最終細胞収量が得られた。15°C の低塩分側 (16~24) では増殖がみられなかったが、高塩分側 (28~36) では増殖が認められ、246~838 cells/mL の最終細胞収量が得られた。17.5~30°C では、すべての塩分で増殖が認められ、得られた最終細胞収量は 24~174 × 10<sup>3</sup> cells/mL の範囲にあった。特に、15°C の塩分 36、17.5°C の塩分 24~36、20~30°C のすべての塩分で、現場において本種による海水の着色が認められるとされる 700 cells/mL 以上<sup>23)</sup>の最終細胞収量を得た。比増殖速度は、水温・塩分ともに高いほど大きい傾向がみられ、最大比増殖速度の 0.91 day<sup>-1</sup> は

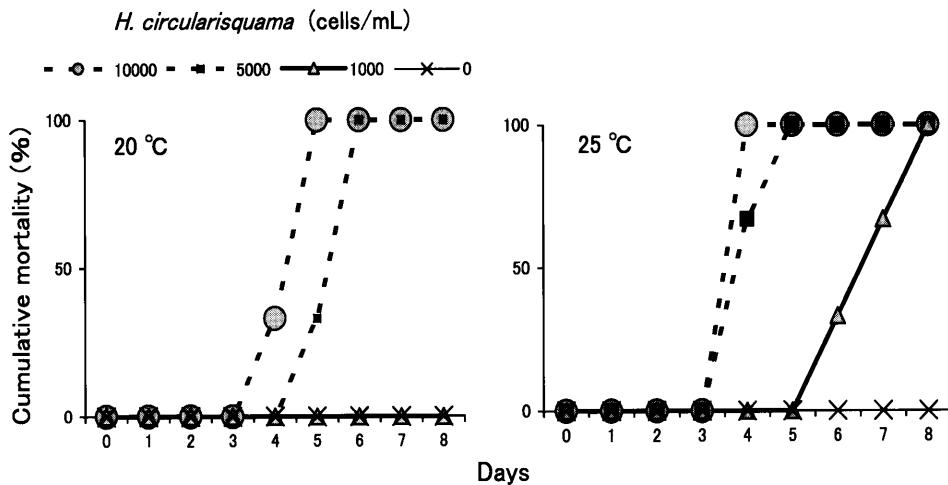


Fig. 5 Effect of *Heterocapsa circularisquama*, 99o1 strain, on the survival of *Ruditapes philippinarum* ( $N=3$ , shell length  $31.4 \pm 1.8$  mm).

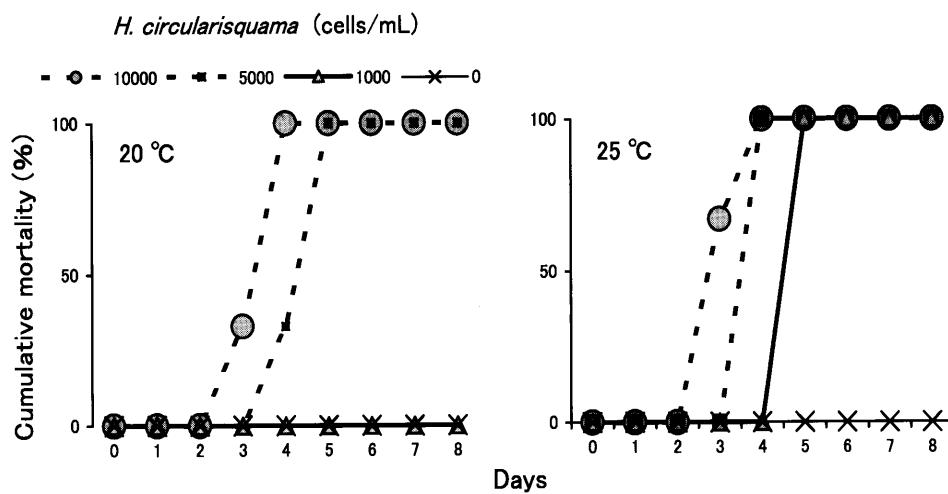


Fig. 6 Effect of *Heterocapsa circularisquama*, OM8-ND12 strain, on the survival of *Ruditapes philippinarum* ( $N=3$ , shell width  $31.6 \pm 2.0$  mm).

30°C, 塩分 32 の条件で得られた (Fig. 8)。

**増殖に及ぼす光強度の影響** 各光強度における 99o1 株の増殖曲線を Fig. 9 に示す。本株は  $20 \sim 140 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  の範囲でよく増殖し、最終細胞収量は  $20.5 \times 10^3 \sim 60.5 \times 10^3 \text{ cells/mL}$  の範囲にあった。 $10 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  の弱光下における最終細胞収量は  $253 \text{ cells/mL}$  と少なかった。比増殖速度は光強度の増加とともに大きくなり、 $80 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  でほぼ飽和した (Fig. 10)。(1)式により、本株の  $\mu_m$  は  $0.86 \text{ day}^{-1}$ ,  $K_s$  は  $24.0 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ,  $I_0$  は  $15.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  であり、比増殖速度と光強度との関係は図中の式で表すことができた。

**H. circularisquama の出現状況** 2002 年 1 ~ 12 月までの *H. circularisquama* の出現状況を Fig. 11 に示した。本種は伊万里湾では 7 月 22 日に  $1.0 \text{ cell/mL}$ , 7 月 30 日に  $90 \text{ cells/mL}$ , 大村湾では 8 月 9 日に  $0.3 \text{ cells/mL}$ , 8 月 20 日に  $0.7 \sim 4 \text{ cells/mL}$ , 9 月 5 日に  $0.7 \sim 2$

cells/mL, 橋湾では 10 月 8 日に  $0.001 \text{ cells/mL}$  確認された。

## 考 察

**二枚貝への影響** アコヤガイ稚貝の顕著な斃死は、殻長  $0.82 \pm 0.12 \text{ mm}$  と殻長  $13.1 \pm 1.26 \text{ mm}$  の両サイズとともに  $5,000 \text{ cells/mL}$  でおこり、 $500 \sim 1,000 \text{ cells/mL}$  では、小型の稚貝（殻長  $0.82 \pm 0.12 \text{ mm}$  サイズ）の生残にも影響を及ぼすことがわかった。このことは、永井<sup>24)</sup>が培養株を用いて行ったアコヤガイ稚貝（平均殻高  $1.88 \text{ mm}$ ）の暴露実験で顕著な斃死は  $3,000 \text{ cells/mL}$  以上で観察されたことと類似している。また、Nagai *et al.*<sup>25)</sup>は本種赤潮海水を用いて行った暴露実験で、アコヤガイ成貝（平均殻高  $70 \text{ mm}$ ）の 24 時間後における斃死は  $2,000 \text{ cells/mL}$  で認められ、 $LD_{50}$  はおよそ  $5,000 \text{ cells/mL}$  であったとしており、今回の実験に

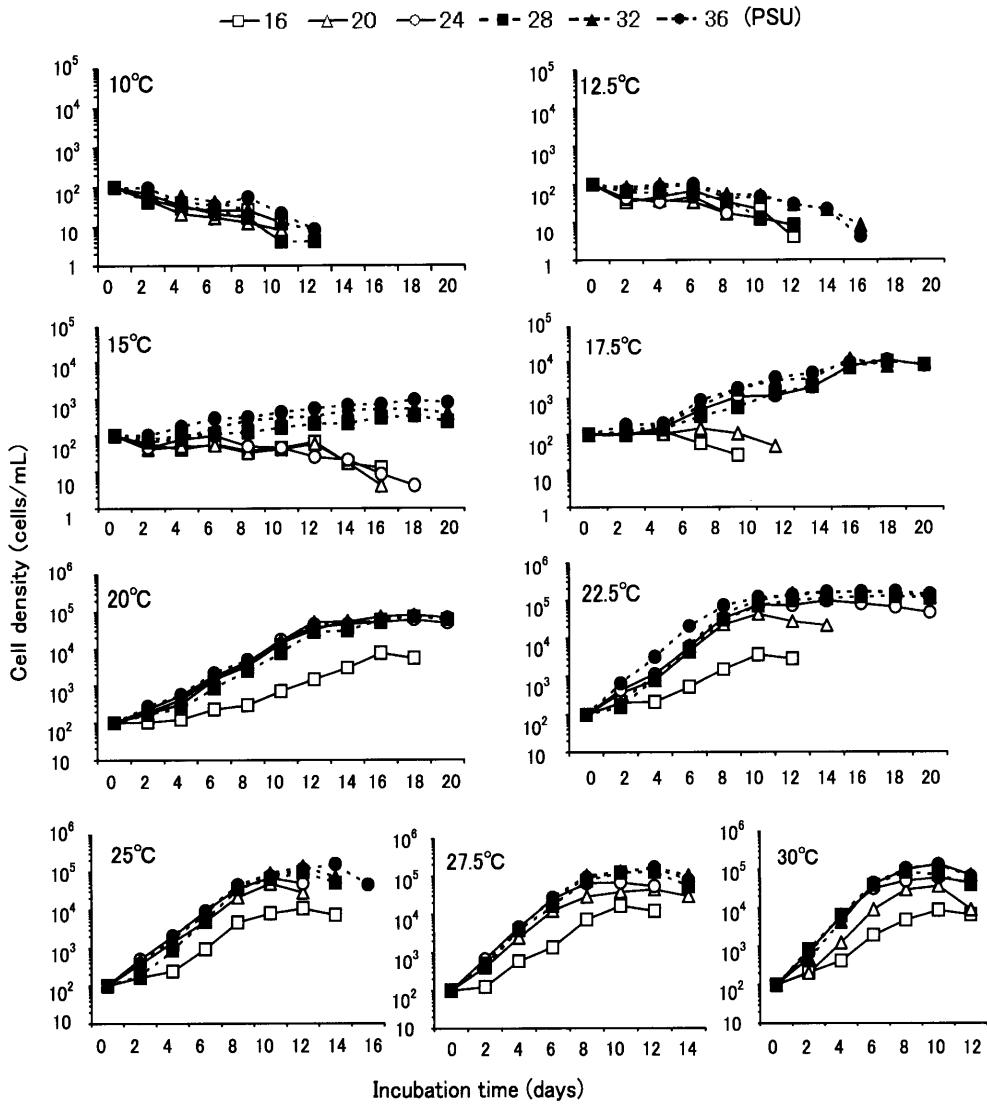


Fig. 7 Growth curves of *Heterocapsa circularisquama*, 9901 strain, grown at various temperature and salinity combinations.

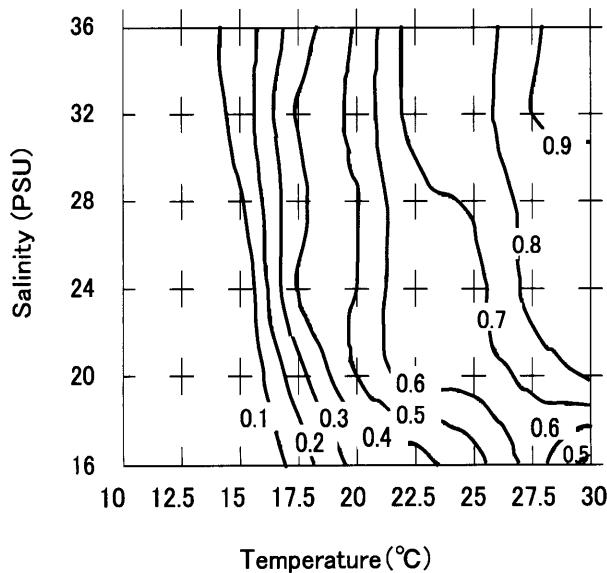


Fig. 8 Growth rate ( $\text{day}^{-1}$ ) of *Heterocapsa circularisquama*, 9901 strain, under various temperature and salinity combinations.

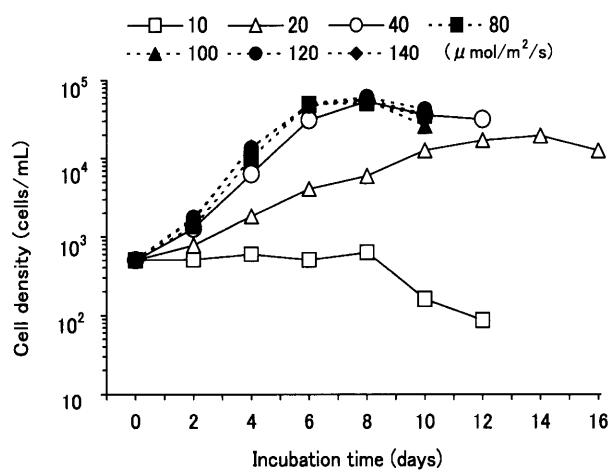


Fig. 9 Growth curves of *Heterocapsa circularisquama*, 9901 strain, under various light intensities.

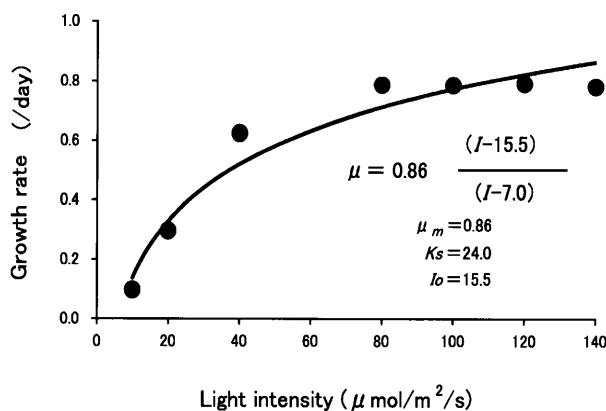


Fig. 10 Growth rate of *Heterocapsa circularisquama*, 99o1 strain, under various light intensities.

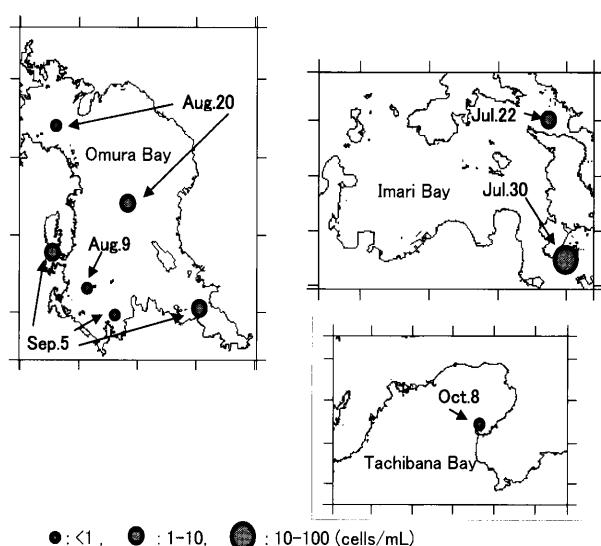


Fig. 11 Distributions of the maximum *Heterocapsa circularisquama* cell densities in coastal waters of Nagasaki Prefecture in 2002.

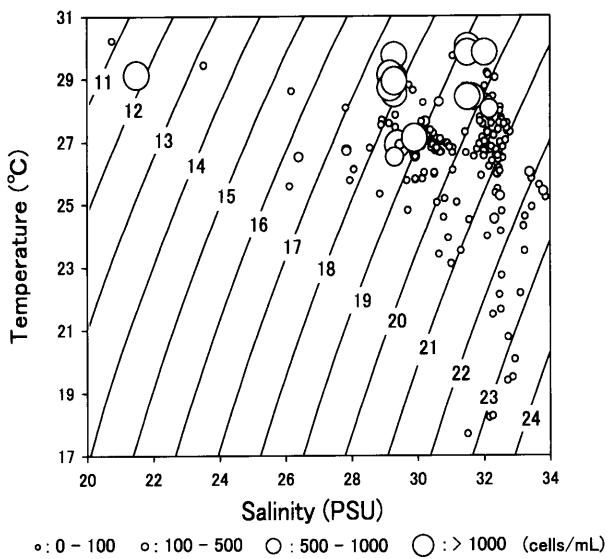
用いたような稚貝だけでなく、成貝でも本種が 5,000 cells/mL 存在すれば、生残に影響を及ぼすと考えられる。

アサリの顕著な斃死は 20°C および 25°C に共通して 5,000~10,000 cells/mL でみられた。アサリは 1,000 cells/mL の場合、20°C では斃死せず、25°C では 5~8 日間ですべての個体が斃死したことから、同じ細胞密度であっても高水温時に影響を受けやすいことが示唆された。このことは、22°C で英虞湾株に暴露されたアサリが 5 日後までに、100~1,000 cells/mL では斃死せず、5,000~10,000 cells/mL では顕著な斃死が認められたとされる報告<sup>8)</sup>と類似している。また、赤潮海水（細胞密度 10,000 cells/mL）を用いて行った暴露実験<sup>5)</sup>では、アサリ 5 個体（殻高  $3.5 \pm 0.2$  mm）は 5 日間にすべて斃死したことや尊田・木村<sup>9)</sup>が三河湾における赤潮現場のアサリの斃死状況から、高水温の状況で本種が 1,000

cells/mL を越える期間が 1 週間ほど続いたことは、アサリの斃死をもたらすのに十分な細胞密度であったと考えられるとしていることとよく一致した。

本邦における本種赤潮による漁業被害をみると、<sup>8)</sup>本種の最高細胞密度が 4,000 cells/mL 以上になると貝類の斃死がみられるようになり、10,000 cells/mL 以上の場合には 11 事例のすべてで漁業被害が報告されている。大村湾では、本種赤潮は 1995 年の 9 月 3~19 日（17 日間）に発生し、最高細胞密度は 48,000 cells/mL であり、<sup>11)</sup> 1999 年の 9 月 13 日~10 月 6 日（24 日間）に発生し、最高細胞密度は 3,700 cells/mL であった。<sup>12)</sup>これらの赤潮発生海域ではアコヤガイ等の二枚貝の養殖が行われているが、漁業被害は報告されていないことから、本種大村湾株は無毒あるいは毒性が低いのではないかと推察されていた。しかし、今回の暴露実験によって、本種は 1,000~10,000 cells/mL でアコヤガイおよびアサリに対する毒性を有していることが明らかとなった。大村湾の真珠養殖業者（漁業士 4 名等）に対する聞き取り調査の結果、1995 年の赤潮発生時に水色変化がわずかにみられた段階で、即座に原因種を確認（長崎水試による形態および遊泳様式による査定）し、主要な養殖貝は本種の分布密度が表層付近で少ない時間帯である早朝に他海域へ移送して生残したが、移送しなかった蓄養中のサザエ（200 個体）はすべて斃死したとの情報を得ている。また、当時の本種赤潮現場調査で高密度発生海域<sup>11)</sup>は養殖筏からわずかにはずれていたことが確認されている。従って、大村湾株は貝に対する毒性は有するものの、赤潮発生前の養殖業者の迅速な対応などによって、大村湾では漁業被害を免れてきたと考えられる。

**増殖特性** 培養実験に基づくと、大村湾株は水温、塩分を個別要素としてみた場合には 12.5~30°C、塩分 16~36 の範囲で増殖が可能であることから、広温性・広塩性であるといえる。15°C の塩分 36、17.5°C の塩分 24~36、20~30°C の塩分 16~36 の範囲では、最終細胞収量が 700 cells/mL を越えるていることから、これらの条件下では、本株は赤潮形成能を有していると考えられる。本株の比増殖速度は、水温、塩分が高いほど比増殖速度が大きく、最大比増殖速度は 30°C、塩分 32 の条件で得られた。植物プランクトンの増殖特性は、同一種であっても株間による違いがあると指摘されているため、<sup>15)</sup> 異なる海域から分離された本種の水温・塩分に対する増殖応答について比較した。山口<sup>14)</sup>は、英虞湾産株<sup>13)</sup>と広島湾産、伊万里湾産、浦ノ内湾産および八代海産の 4 株は、10°C では全く増殖できず、15°C では高塩分のみで増殖し、増殖速度は高水温、高塩分で大きい傾向がみられ、最大増殖速度は 30°C、塩分 20~30 で得られたことから、これら 5 株は高水温、高塩分を好む



**Fig. 12** Relationship between water temperature and salinity for cell densities of *Heterocapsa circularisquama* in coastal waters of Nagasaki Prefecture in 1995–2002. Diagonal lines show seawater densities ( $\sigma_t$ ).

といった共通の特性を有しているとしている。大村湾株は低水温（12.5°C）でもわずかに増殖できることを除くと、これらの5株と類似した増殖特性を有していることが明らかとなった。大村湾株の比増殖速度（Fig. 8）と過去の本種出現環境との関係について検討した。1995～2002年に長崎県沿岸海域に本種が出現した時のT-SダイヤグラムをFig. 12に示した。本種は17.7～30.2°C、塩分は20.75～33.86の範囲で観察された。そのうち500 cells/mL以上の密度で本種が観察された時の水温は26.5～30.0°C、塩分21.50～32.16の範囲にあり、比増殖速度が0.8 day<sup>-1</sup>以上と高くなる条件（27.5～30°C、塩分20～36）とほぼ一致した。本種は現場出現環境からみても高水温、高塩分条件で最適増殖を示すことがわかる。このような本種の増殖特性を考慮すると、現場では夏季の小雨・高水温期に他の藻類と競合した時には赤潮形成に有利に現れると考えられる。一方、本株は低水温の10°Cでは増殖できないものの高塩分条件（28～36）で遊泳細胞が10日間確認され、12.5°Cの高塩分（32～36）条件ではわずかながら増殖が認められた。このことは、広島湾での観測結果で本種の増殖下限が11.2～12.5°Cであったことや広島湾株を用いた培養実験の結果、本種は12.5～32.5°Cで増殖可能であったこと<sup>2)</sup>と良く一致する。

本種培養株の光強度に対する各パラメーターは、 $\mu_m$ は0.86 day<sup>-1</sup>、 $K_s$ は24.0 μmol/m<sup>2</sup>/s、 $I_0$ は15.5 μmol/m<sup>2</sup>/sであり、比増殖速度は80 μmol/m<sup>2</sup>/sで飽和することが明らかとなった。本種の光強度に関する増殖特性について、これまでの報告をみると、英虞湾株<sup>14)</sup>では

25°Cの場合、100 μmol/m<sup>2</sup>/s程度で飽和していると思われ、今回の実験結果とほぼ類似していた。今回の実験で求めた値を現場海域に適用してみる。2002年の大村湾における9月の現場環境調査結果から、海水表面下（0～0.3 m）の光強度は平均で512 μmol/m<sup>2</sup>/sであった。また、大村湾における本種赤潮調査時<sup>11,12,26)</sup>の透明度の平均は4.5 mであったことから、(2)式<sup>27)</sup>により消散係数を求め、(3)式<sup>27)</sup>により、本種の増殖が飽和する光強度（80 μmol/m<sup>2</sup>/s）および赤潮を形成する増殖能を有する光強度（20 μmol/m<sup>2</sup>/s）に相当する水深を求めると、それぞれ4.0 mおよび7.0 mとなった。

$$K = 2.1/T \quad (2)$$

ここで、 $K$ は消散計数（m<sup>-1</sup>）、 $T$ は透明度（m）をそれぞれ示す。

$$Id = I_0 e^{-kd} \quad (3)$$

ここで、 $Id$ は深度 $d$ における光強度（μmol/m<sup>2</sup>/s）、 $I_0$ は海表面における光強度（μmol/m<sup>2</sup>/s）を示す。現場で本種が700 cells/mL以上確認された時の水深は5 m以浅<sup>11,12,26)</sup>であったことから、本種は4 m以浅で高密度に分布し、5～7 m付近の中層域でも赤潮を形成することが可能であると推測された。これらのこととは1995年11月の広島湾で本種遊泳細胞が0～2 m層に多数分布していたこと<sup>23)</sup>や1992年9月の英虞湾で本種細胞は水深5 m付近に高密度に分布していた現場観察結果<sup>4)</sup>とよく一致している。従って、室内実験および現場赤潮調査から、本種は高水温、高塩分を好み、水温30°C、塩分28～32で最もよく増殖し、水深5 m以浅において高密度の赤潮を形成する可能性を指摘することができる。今後は、現場観測（水温、塩分）によって、本種の比増殖速度の上昇が予測された場合には、漁場監視モニタリングを強化し、本種出現の初期段階を把握することによって赤潮被害の防除を図ると同時に、本種赤潮の発生前、盛期、終期にかけて栄養塩等の詳細な調査を実施することによって、当該海域における本種赤潮発生機構を総合的に解明する必要がある。

**出現状況** 今回の分布調査では、*H. circularisquama*が大村湾、伊万里湾、橋湾に出現することが確認された。本種は大村湾では1995年<sup>11)</sup>と1999年<sup>12)</sup>、伊万里湾では1996年<sup>26)</sup>にいずれも9月に赤潮を形成し、両海域では既に出現が認められていた。しかし、当時の種同定は光学顕微鏡による外部形態に基づいていただけで種同定の確実性に欠けていた。今回の鱗片の観察により存在が再確認された。また、これまで報告のなかった橋湾でも本種が存在していることが明らかとなった。従って、これらの海域では本種出現に対するモニタリング体制を充実させる必要がある。

## 謝 辞

この調査研究に際してご助言を賜った独立行政法人水産総合センター瀬戸内海区水産研究所の山口峰生博士、松山幸彦博士に深く感謝します。また、取りまとめに当たって、種々ご協力頂いた長崎県総合水産試験場の高木信夫氏および現場調査等にご尽力頂いた(現)五島支庁水産課の丸田肇氏に御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Matsuyama Y. Harmful effect of dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on shellfish aquaculture in Japan. *JARQ.* 1999; **33**: 283-293.
- 2) 松山幸彦. 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 2003; **7**: 24-105.
- 3) 山本千裕, 田中義興. 福岡湾で発生した2種類の有害赤潮プランクトンについて. 福岡水試研報 1990; **16**: 43-44.
- 4) 松山幸彦, 永井清仁, 水口忠久, 藤原正嗣, 石村美佐, 山口峰生, 内田卓志, 本城凡夫. 1992年に英虞湾において発生した *Heterocapsa* sp. 赤潮発生期の環境特性とアコヤガイ斃死の特徴について. 日水誌 1995; **61**: 35-41.
- 5) 江藤拓也, 桑村勝士, 佐藤博之. 1997年秋季に豊前海で発生した *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況と漁業被害の概要. 福岡水海技セ研報 1998; **8**: 91-96.
- 6) 玉井恭一. *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生と被害の現状. 日本プランクトン学会報 1999; **46**: 153-154.
- 7) 本城凡夫. 有害プランクトンによる漁業被害の発生状況とその問題点. 「有害・有毒赤潮の発生と予知・防除」(石田祐三郎編) 水産研究叢書 48, 日本水産資源保護協会, 東京. 2000; 4-17.
- 8) 松山幸彦. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* に関する生理生態学的研究—II. *H. circularisquama* の毒性および貝類斃死機構の解明. 水研センター研報 2003; **9**: 13-117.
- 9) 尊田佳子, 木村仁美. 2000年三河湾における *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況. 愛知水試研報 2001; **8**: 1-6.
- 10) 内田卓志, 松山幸彦, 山口峰生, 本城凡夫. 有害渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* の赤潮発生機構. 「有害・有毒赤潮の発生と予知・防除」(石田祐三郎編) 水産研究叢書 48, 日本水産資源保護協会, 東京. 2000; 137-149.
- 11) 長崎県水産試験場. 平成7年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書—I. —モニタリング情報活用—(長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1996; 11-18.
- 12) 長崎県総合水産試験場. 平成11年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書—I. —モニタリング情報活用—(長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎県総合水産試験場, 長崎. 2000; 37-39.
- 13) Yamaguchi M, Itakura S, Nagasaki K, Matsuyama Y, Uchida T, Imai I. Effects of temperature and salinity on the growth of the red tide flagellates *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and *Chattonella verruculosa* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.* 1997; **19**: 1167-1174.
- 14) 山口峰生. 生理学的特性に基づく新型赤潮プランクトン優占化機構の解明. 渦鞭毛藻・ラフィド藻等による新型赤潮の発生機構と出現予測技術の開発に関する研究・5ヶ年の研究報告書, 瀬戸内海区水産研究所, 広島. 1999; 7-20.
- 15) 山本民次, 樽谷賢治. 広島湾有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類 1997; **45**: 95-101.
- 16) Iwataki M, Takayama H, Matsuoka K, Fukuyo Y. *Heterocapsa lanceolata* sp. nov. and *Heterocapsa horiguchii* sp. nov. (Peridiniales, Dinophyceae), two new marine dinoflagellates from coastal Japan. *Phycologia*. 2002; **41**: 470-479.
- 17) 堀口健雄. *Heterocapsa circularisquama* の分類とその問題点—形態分類. 日本プランクトン学会報 1999; **46**: 164-166.
- 18) 水産庁九州漁業調製事務所. 平成14年九州海域の赤潮. 福岡. 2003; 31.
- 19) 今井一郎. 赤潮微細藻類の計数と無菌培養法. 「海洋環境アセスメントのための微生物実験法」(石田祐三郎, 杉田治男編) 恒星社厚生閣, 東京. 2000; 85-90.
- 20) 岡市友利, 西尾幸郎, 今富幸也. 有毒プランクトン研究法. 「有毒プランクトン—発生・作用機構・毒成分. 水产学シリーズ42」(日本水産学会編), 恒星社厚生閣, 東京. 1982; 26.
- 21) Press WH, Teukolsky A, Vetterling WT, Flannery BP. 「ニューメリカルレシピ・イン・シー: C言語による数値計算のレシピ」(丹慶勝市他訳) 技術評論社, 東京. 1993; 483-526.
- 22) Matsuyama Y, Uchida T, Honjo T. Effects of harmful dinoflagellates, *Gymnodinium mikimotoi* and *Heterocapsa circularisquama*, red-tide on filtering rate of bivalve molluscs. *Fish. Sci.* 1999; **65**: 248-253.
- 23) 松山幸彦, 木村淳, 藤井斉, 高山晴義, 内田卓志. 1995年広島湾西部で発生した *Heterocapsa circularisquama* 赤潮の発生状況と漁業被害の概要. 南西海区水研研報 1997; **30**: 189-207.
- 24) 永井清仁. *Heterocapsa circularisquama* によるアコヤガイの斃死. 日本プランクトン学会報 1999; **46**: 155-156.
- 25) Nagai K, Matsuyama Y, Uchida T, Akamatsu S, Honjo T. Effects of natural population of the harmful dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the survival of the pearl oyster *Pinctada fucata*. *Fish. Sci.* 2000; **66**: 995-997.
- 26) 長崎県水産試験場. 平成8年度貝毒成分・有害プランクトン等モニタリング事業報告書—I. —モニタリング情報活用—(長崎県下における赤潮の発生状況), 長崎県水産試験場, 長崎. 1997; 20.
- 27) T. R. パーソンズ, 高橋正征. 「生物海洋学」(市村俊英訳) 三省堂, 東京. 1974; 83-118.