

1971年夏季の大村湾海水による赤潮プラン
クトン *Gymnodinium* '65年型種の培養

平 山 和 次・飯 塚 昭 二・米 司 隆

On Culture of *Gymnodinium* type-'65 in the Sea Water
Sampled in Omura Bay During Summer 1971

Kazutsugu HIRAYAMA, Shoji IIZUKA and Takashi YONEJI

IIZUKA and IRIE¹⁾ suggested from their detailed observation that the red tide in Omura Bay owing to the bloom of a species of *Gymnodinium* (referred to as *Gymnodinium* type-'65) was closely connected to the anoxic bottom water and that the growth of this plankton might be accelerated in the environment containing general nutrients and some unknown stimulants supplied from the bottom mud under the anoxic or nearly anoxic status.

In the present study, *Gymnodinium* type-'65 was cultured in the sea water collected at several intervals during summer 1971 from the central part of Omura Bay (Fig. 1, st. 4, 10m deep) where the red tide occurred frequently. From the process of the growth of this plankton, the causes of the outbreak of the red tide in Omura Bay were estimated experimentally.

Results obtained are as follows.

- 1) *Gymnodinium* type-'65 could not grow in the sea water sampled in early July before the development of anoxic condition in the bottom water, and added with no inorganic nutrients. On the other hand, in the sea water collected during the season from late July to late August when the bottom water became nearly anoxic, this plankton could grow to some extent (Figs. 2 and 3).
- 2) When inorganic nutrients were added to the sea water of any sampling season, *Gymnodinium* type-'65 could grow much better than it did in the sea water without any enrichment. The growth was available even in the sea water collected in early July in which this plankton could not grow if inorganic nutrients were not added (Fig. 2).

* 1971年度長崎県依託研究費の補助による。

- 3) In the sea water collected in August while nearly anoxic status in the bottom water was developing, *Gymnodinium* type-'65 at the early stage after inoculation could grow better than the one in the control medium which was prepared from the sea water collected at the shore facing open sea (Fig. 4).

These results mentioned above suggest that the supply of inorganic nutrients into the sea water is essential to the outbreak of red tide by *Gymnodinium* type-'65 in Omura Bay and that the sea water sampled in the season of frequent occurrence of the red tide may contain the growth promoting substance which is not included in the composition of WILSON-COLLIER medium.

大村湾に発生する *Gymnodinium* '65年型種 (仮称) による赤潮については、飯塚・入江¹⁾ により詳細な観測がなされており、その結果、本種の赤潮発生と海底水の無酸素化との間に密接な関係があることが推察されている。さらに、原因プランクトンの増殖が海底水の無酸素化、あるいは、それに近い状況下で海底泥から供給される一般栄養素及び未知ではあるが増殖刺激物質を含む環境水の中で促進されることが推定されている。

本研究は1971年夏季、大村湾の海水を定期的に採取して、一般海況調査を行なうとともに、その海水を用いて *Gymnodinium* '65年型種を培養し、増殖の経過を求めたものである。その結果、海水の採取時期によって異なる増殖の経過を、一般海況調査結果と対比して検討し、大村湾における赤潮プランクトンの増殖制限要因を求め、大村湾に *Gymnodinium* '65年型種の赤潮を発生させる誘因を実験的に探策することを目的とした。

1971年夏季の海況と供試海水の採取

一般海況調査は大村湾南部水域の5定点 (Fig. 1) で行なった。そのうち本試験に供した海水は赤潮多発水域と認定されている st. 4 (水深約18m) の10m層のもので、7月5日から9月8日に至る期間中8回の供試海水を採取し培養実験を行なった。採水点における水温、塩素量および溶存酸素量は Table 1 に示した。この年は、7月20日~25日に延べ475mm*の豪雨があり、また8月5日には台風19号が接近したため、湾水は希釈攪拌されたが、その影響は表層水にとどまり、採水層までは及ばなかった。一方7月中旬の日照は海象を安定させ、海底水酸素量は減少しはじめ、この傾向は7月下旬に顕著となり、8月下旬には一部海底水は無酸素の状態になった。海底水のこのような低酸素化傾向は採水層にも反映し、7月26日から8月23日まで酸素量はいずれも4 ml/l 以下となった (Table 1)。その後8月末には台風23号が接近し、強風が8月28日から31日に至る4日間連続吹送したため湾水は強く攪拌され、それまでの成層状態と海底水無酸素化現象は1時的に解消された (9月2日)。また9月上旬には94mmの降雨があり、その影響は採水層の塩素量を17%以下にまで低下させた (9月13日)。これらの海象をうけて期間中2回の小規模赤潮が発生した。その発生時期、発生域等については Table 2 に略記した。第1回赤潮は *Gymnodinium* 多種混合型赤潮であり、第2回赤潮は *Ceratium furca* 単種型赤潮である。発生時期の海況から推測すると前者は海

* 降雨量についてはすべて長崎海洋気象台の資料によった。

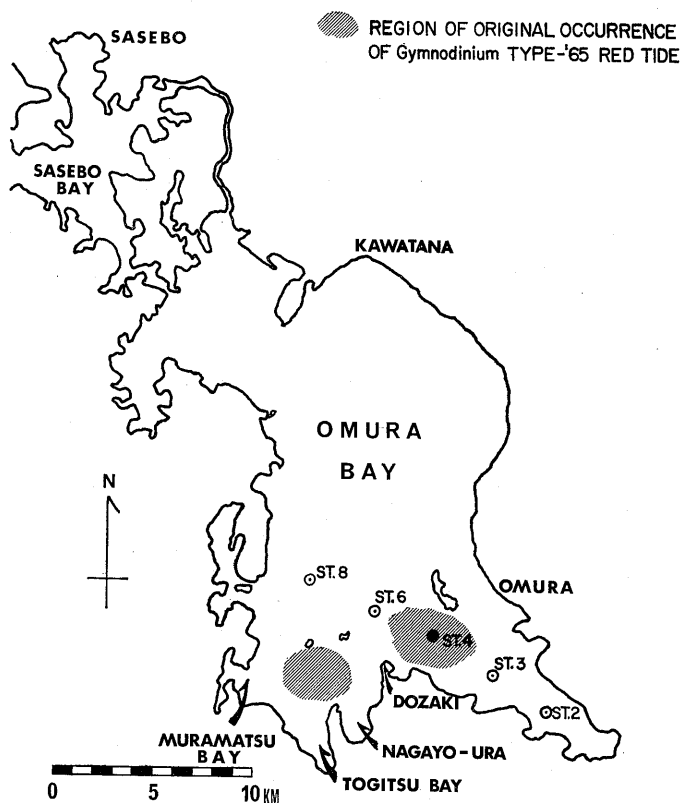


Fig. 1. Map of Omura Bay.

Sample water was collected at the depth of 10m at station 4.

Table 1. Water temperature, chlorinity and oxygen content in *situ* sea water sampled at the 10m depth layer of st. 4 (Omura Bay, 1971).

Sampling day	Water temperature (°C)	Chlorinity (‰)	Oxygen content (ml/l)	Degree of oxygen deficiency in bottom water
Jul. 5	24.5	17.88	4.0	
Jul. 12	25.2	17.84	4.0	Slight
Jul. 19	25.4	17.79	4.2	
Jul. 26	25.9	17.75	3.5	
Aug. 9	26.2	17.62	3.6	Conspicuous
Aug. 16*	27.0	17.49	3.7	
Aug. 23	27.3	17.44	3.5	
Sep. 2	26.7	17.30	4.8	Disappeared
Sep. 8	26.1	17.05	4.5	Conspicuous again
Sep. 13*	26.2	16.85	5.5	

* Bioassay was not performed.

Table 2. Features of red tide occurred in 1971 (Omura Bay).

Classification	1st red tide	2nd red tide
Type of red tide	Polyspecies red tide of <i>Gymnodinium</i>	Monospecies red tide of <i>Ceratium</i>
Occurrence period	Aug. 9~14	Sep. 8~14
Causative species	<i>Gymnodinium A₃</i> , <i>Gymnodinium A₁</i> and others	<i>Ceratium furca</i>
Maximum concentration recorded	About 2,000 cells/ml	About 5,000 cells/ml
Occurrence locality	Muramatsu Bay, Togitsu Bay and vicinity of st. 6	Southern part of the bay, including mainly st. 3, 4, 6 and Nagayo-Ura

底水の低酸素水浮揚の関連で発生した可能性が強く、また後者は降雨性赤潮である可能性が強い。なお、この年は本試験の対象生物である *Gymnodinium* '65年型種の出現はほとんどなかった。

実 験 方 法

海水は採取後、直ちに定性用濾紙 No.101 (東洋濾紙 K.K.) で濾過後、実験開始まで凍結 (-20℃) 保存した。

この海水に WILSON-COLLIER の培養液に添加されるすべての栄養塩、有機物などを添加した培養液²⁾*, そのうちの NH₄Cl, KH₂PO₄ の無機栄養塩のみを添加した培養液を作成し**, さらに栄養塩などを全く添加していない大村湾海水だけのものの3種の培養液を各々用意した。また、7月26日以降の5回の実験では、対照として、大村湾外の外洋に面した海岸で採取し貯蔵しておいた海水を用いて作成した WILSON-COLLIER 培養液も用意した***。これら4種の培養液はいずれも塩素量は約15%, pH は 7.8 に調整した³⁾。

これら4種の培養液を 100ml 丸型平底フラスコ各3本に 50ml ずつ分注し、あらかじめ培養しておいた対数期にある *Gymnodinium* '65年型種を、初期濃度が4種の培養液とも同一になるように接種した。各実験ごとの初期濃度はほぼ 40~60cells/ml である。植物育成用蛍光灯 (照度約 500lux) により連続照明し、水温を約 25℃ に保ち、静置培養した。そして、接種後4日目、15日目、30日目の増殖濃度を測定した。増殖濃度の測定方法は前報と同様に行ない、同一種類の培養液による3本のフラスコについての平均値を増殖濃度とした。

* 海水 180 l, 蒸留水 20ml, NH₄Cl 0.2mg, KH₂PO₄ 0.1mg, MgCl₂ · 6H₂O 0.04mg, NaHCO₃ 0.2mg, Na₂S · 9H₂O 0.2mg, V.B₁₂ 0.2μg, V.B₁ · HCl 2.0mg, ビオチン 0.1mg, 土壌抽出液 1.0ml, トリス緩衝剤 100mg.

** 海水 180ml, 蒸留水 20ml, NH₄Cl 0.2mg, KH₂PO₄ 0.1mg.

*** 5回とも同一の貯蔵海水を使用した。

結 果

各採水時期の *Gymnodinium* '65年型種の全培養結果はとりまとめて、Fig. 2 に示した。図には、初期濃度に対する増殖濃度の比を求め、それを増殖率として示してある。またその採水期間中の海象についても簡単に併示した。

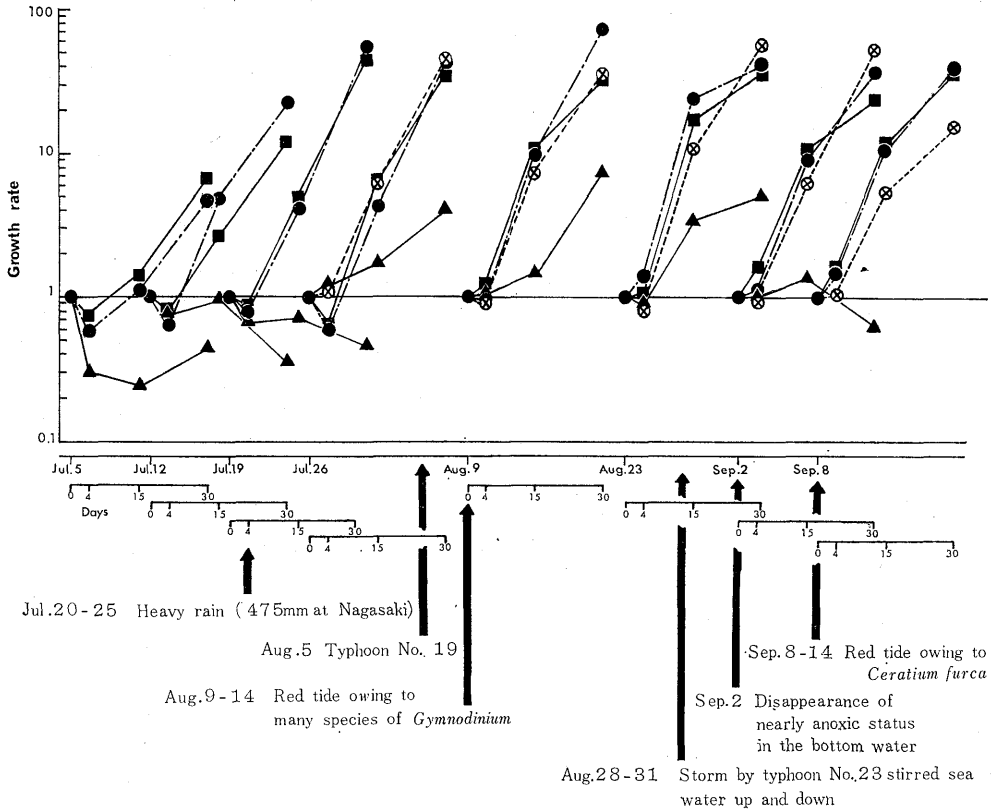


Fig. 2. Process of growth of *Gymnodinium* type-'65 in medium prepared from sea water sampled in Omura Bay during summer 1971.

Growth rate represents the ratio of plankton density at a given period of culture to the density at inoculation.

- ▲ : Sea water in Omura Bay supplied with no enrichment.
- : Sea water in Omura Bay supplied with inorganic nutrients.
- : Sea water in Omura Bay supplied with all inorganic and organic nutrients included in the composition of WILSON-COLLIER medium.
- ⊗ : WILSON-COLLIER medium (control) prepared from sea water collected from the shore facing open sea.

栄養塩などをまったく添加していない大村湾の海水のみを用いて *Gymnodinium* '65年型種を培養した場合については、その採水時期による増殖濃度の違いを、接種後4日目、15日目、および30日目ごとにまとめて Fig. 3 に示した。

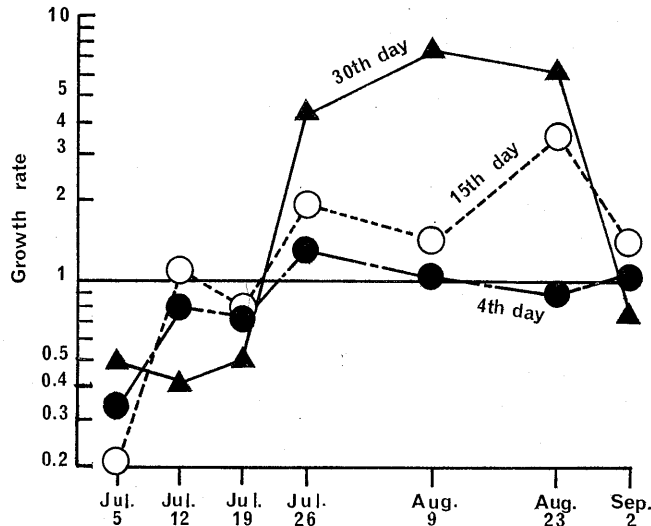


Fig. 3. Growth rates of *Gymnodinium* type-'65 in sea water collected in Omura Bay on various sampling days and added with no enrichment.

Fig. 2 および Fig. 3 からわかるように、赤潮が発生せず、海底水の低酸素化現象も進行していない7月5日、7月12日、7月19日の海水だけでは、本種は初期濃度以上にはほとんど増殖しなかった。しかし大村湾海底水の溶存酸素量が低下しはじめた7月26日の海水では、一応の増殖を示すようになり、*Gymnodinium* 多種混合型の赤潮の発生した8月9日の海水では、培養終期の30日目には、増殖率は7.50、濃度は347cells/mlまで増殖した。8月23日海水でも一応の増殖を示したが、海底水の溶存酸素が再び増加しはじめた9月2日の海水では、培養開始後15日目には増殖率で1.41まで増殖したが、それ以後増殖せず、30日目には増殖率0.67と初期濃度よりも低くなった。

なお9月8日の *Ceratium furca* の単種型赤潮の発生した時期の海水を用いての培養結果は事故のためえられなかった。

大村湾の海水に栄養塩のみを添加した培養液を用いた場合は、全実験を通じて一応の増殖がみられた。栄養塩を全く添加しない場合には増殖しなかった7月初旬の海水でも、7月19日には培養30日目には、Fig. 2 に示したように増殖率43.6、濃度2,424cells/mlとなり、かなりよく増殖している。しかし、7月5日、7月12日の海水では一応の増殖はしたが、30日目でも増殖率はそれぞれ6.74 および12.13 にすぎず、増殖濃度も500cells/ml 以上にはならなかった。

大村湾の海水に、WILSON-COLLIER 培養液に含まれる栄養塩、有機物などのすべてを添加した場合は、栄養塩のみを添加した前述の培養液を用いた場合と、ほぼ同様な増殖の経過を示した。しかし、培養終期の30日目の増殖率は、7月5日の海水を用いた場合を除いて、

いずれも、V. B₁, V. B₁₂, ビオチン、土壌抽出液などの有機物まで添加した培養液を用いた方が、栄養塩のみを添加した培養液を用いた場合より、良好であった。その傾向は *Gymnodinium* 多種混合型の赤潮の発生した8月9日の海水で最も著しく、有機物まですべてを添加した培養液では、培養30日目の増殖率は73.8と最高値を示したのに対して、栄養塩のみを添加した培養液では 33.3 であった。

さらに培養初期の誘導期が採水時期によってどのように異なるかを検討するため、外洋に面した海岸で採取した海水で作成した WILSON-COLLIER 培養液 (対照実験) での培養4日目の増殖濃度を1として、各種培養液での4日目の増殖濃度の比を求めた。その値の採水時期による違いは Fig. 4 に示した。図にみられるように、7月26日の海水に栄養塩等を添加したものを除いては、いずれも大村湾海水で作成した培養液の方が増殖濃度が大きくなっている。すなわち、赤潮の発生する時期の大村湾海水を用いて培養した方が対照として用いた外洋水による場合よりも、本種の誘導期が短くなる傾向があることがわかる。

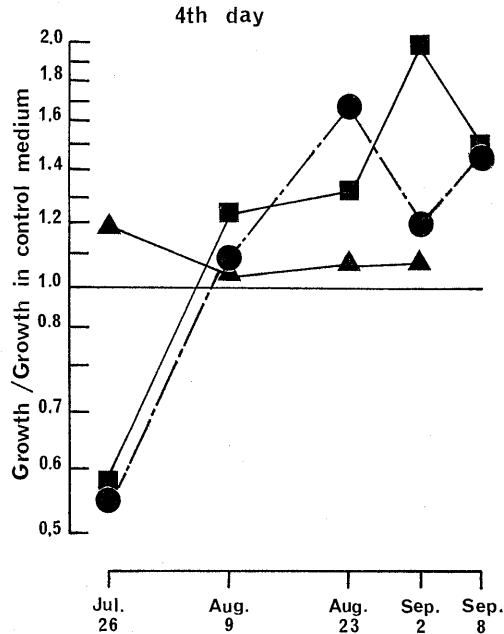


Fig. 4. Proportion of growth rate on the 4th day after inoculation in various media prepared from the sea water collected in Omura Bay at various sampling dates to that in WILSON-COLLIER medium (control) prepared from sea water at the shore facing open sea.

- : Sea water supplied with no enrichment.
- ▲ : Sea water supplied with inorganic nutrients.
- : Sea water supplied with all inorganic and organic nutrients included in the composition of WILSON-COLLIER medium.

考察および結論

7月26日から8月23日までの海水では何も添加しないでも *Gymnodinium* '65年型種は一応の増殖を示したのに反し、7月19日までの海水と、9月2日の海水では本種は増殖しなかった。このことは、まず第1にこの時期の大村湾海水には本種の増殖にとって必要な栄養塩が不足していたためであると考えられる。

ただ、1971年は *Gymnodinium* '65年型種による赤潮は発生しなかった。そして小規模ではあるが、本種以外の *Gymnodinium* による混合型赤潮と *Ceratium furca* の単種型赤潮がみられた。すなわち、1971年夏季の海況は *Gymnodinium* '65年型種以外のこれら赤潮プランクトンの増殖により好適であったと考えられる。

大村湾海水の栄養塩等については、1970年は6月25日から10月20日まで、週1回の採水を行ない調査した。Fig. 1に示したst. 4の各層より採取して、栄養塩等の変動を求めた結果はFig. 5に示した。1970年も大村湾海底水は完全に嫌気状態になることなく、いわゆる低酸素化年であった。又赤潮も大規模には発生せず、7月28日の調査において *Gymnodinium* '65年型種による小型赤潮 (5,000cells/ml) が時津、堂崎沖に発生したのがみられたのみである。

Fig. 5 からわかるように、大村湾は周年を通じてみると、栄養塩の少ない貧栄養の状態にあることがわかる。ただ、7月28日の *Gymnodinium* '65年型種の赤潮が発生した時には、底層において急激な溶存酸素の減少がみられ、それと同時に各種栄養塩、特に磷酸態リン、アンモニア態窒素の底層での増加がみられた。

本実験期間中の海況も、7月26日から8月23日までは海底水の溶存酸素量は低下し、その影響はTable. 1に示したように、採水層にまで及び、その溶存酸素量は4 ml/l以下にとどまった。したがって、この期間、大村湾海水のみでも、*Gymnodinium* '65年型種が一応の増殖を示したのは、海底から幾分かの栄養塩の供給があったためかも知れない。

本実験は、1971年7月5日から9月8日までの大村湾海水を用いて、*Gymnodinium* '65年型種を培養したのであるが、9月8日以後の培養は行なわれなかった。また生物試験と併行して大村湾海水の栄養塩の調査が行なわれなかった等、いくつかの不備な点はあるが、1971年の大村湾海水を用いての実験結果と1970年の栄養塩等の観測結果とをあわせて考えると、大村湾では本種の増殖にとって栄養塩の供給は不可欠であり、したがって、大村湾海水に栄養塩が供給されることが、赤潮発生の一つの大きな誘因になっていることが推察される。

さらに、Fig. 4に示したように、赤潮発生期である8月の海水では、培養初期の4日目の増殖が対照とした外洋水により作成した WILSON-COLLIER 培養液と比較してより促進されること、すなわち、大村湾海水を用いた方が、*Gymnodinium* '65年型種にとって誘導期が短いという事実は、この時期には、大村湾の海水に WILSON-COLLIER 培養液に添加される栄養塩、有機物以外の増殖促進物質が供給される可能性も考えられる。

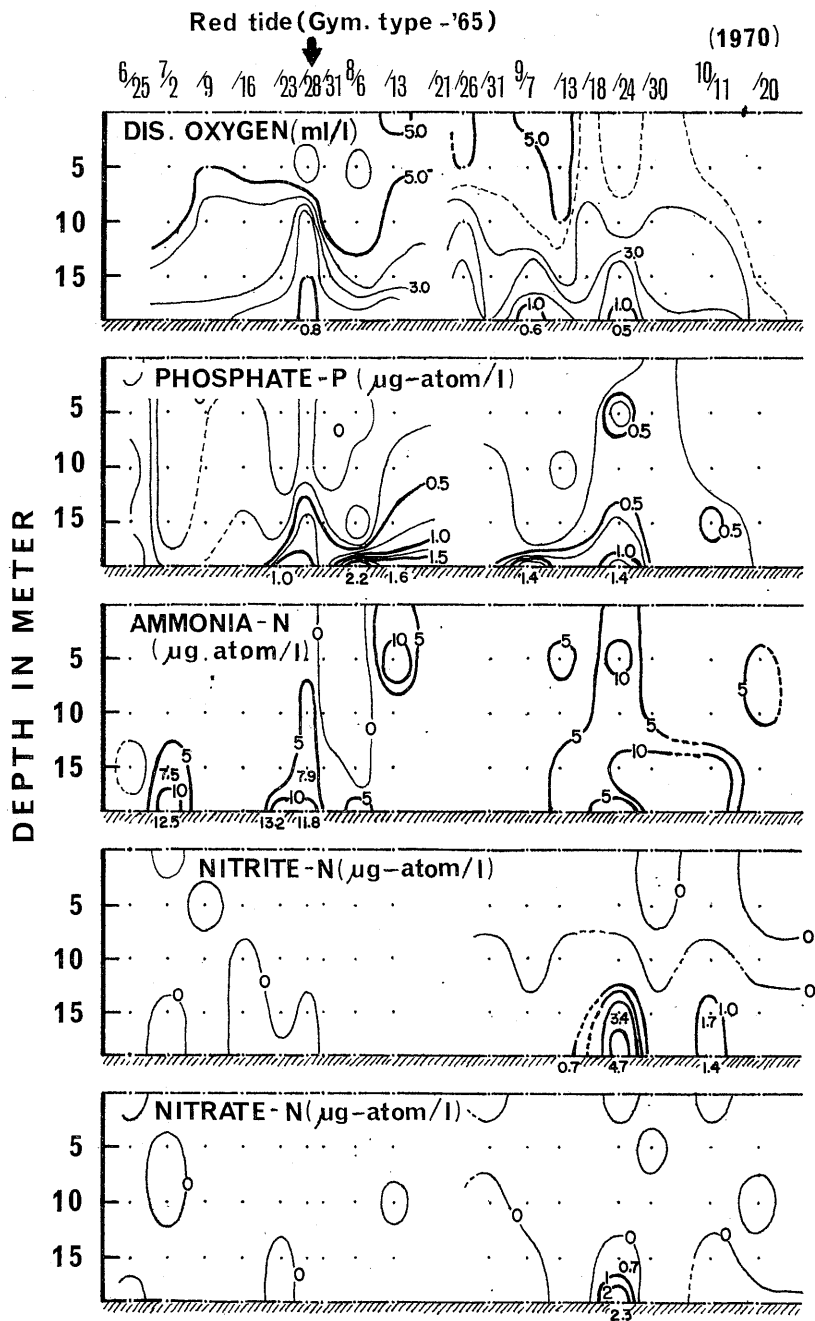


Fig. 5. Chronological change of oxygen content and inorganic nutrients in sea water at the depth of 10m at station 4 where red tide occurred frequently (Cmura Bay, 1970).

摘 要

1971年夏季, 大村湾海水を定期的に1定点 (Fig. 1の st. 4の10m層) で採取し, この海水を用いて *Gymnodinium* '65年型種を培養し, その増殖の様子を比較して, 本種赤潮の発生要因を実験的に探索した。

1) 大村湾海水に栄養塩等を全く添加しない場合には, 海底水無酸素化の傾向があまりみられない7月初旬は *Gymnodinium* '65年型種は増殖しえなかったが, 海底水の溶存酸素量が低下した8月の海水では一応の増殖がみられた。

2) 大村湾海水に栄養塩を添加した場合には全調査期間を通じて *Gymnodinium* '65年型種は無添加の場合よりもより増殖した。また, 無添加の場合には増殖しなかった7月19日までおよび9月2日の海水でも一応の増殖を示した。

3) 大村湾海水で作成した培養液での *Gymnodinium* '65年型種の増殖と, 外洋水でのそれ (対照) とを比較すると, 前者の方が本種の誘導期が短いことがわかった。

4) 以上の事実と1970年の大村湾栄養塩等の調査結果より, 大村湾における *Gymnodinium* '65年型種の赤潮発生には, 栄養塩の供給が不可欠であること, 赤潮発生時の海水には WILSON-COLLIER の培養液の処方には含まれていない増殖促進物質が存在する可能性があることがわかった。

謝 辞

本研究の機会を与えられ, 御助言, 御鞭達を賜わった本学入江春彦教授, 岡正雄教授に深く感謝致します。

文 献

- 1) 飯塚昭二・入江春彦: 大村湾における *Gymnodinium* 赤潮発生と海底水無酸素化現象との関連, 日本ブ学会報, 16 (2), 99-115 (1969)
- 2) WILSON, W. B. and A. COLLIER: Preliminary notes on the culturing of *Gymnodinium brevis* Davis., *Science*, 121, 394-395 (1955)
- 3) 沼口克之・平山和次: 大村湾赤潮原因種 *Gymnodinium* '65年型種の培養に好適な pH と塩分について, 本誌, 33, 7-10 (1972)