

有害ラフィド藻 *Chattonella marina* と *Heterosigma akashiwo* の

早期赤潮発生予測のための増殖-競合モデルの構築

伊藤 祐二

鹿児島大学農学部 農林環境科学科
〒890-0065 鹿児島市郡元 1 丁目 21 番 24 号
E-mail: k5070578@kadai.jp

要旨

Chattonella 属や *Heterosigma akashiwo* に代表される有害ラフィド藻による赤潮に対し、有効な対策を講じるには、それらの発生-発達機序の解明が必須である。しかし、沿岸水域の複雑な物理・化学・生物学的環境により、ラフィド藻赤潮の発生-発達を予測することは困難な状況にある。本研究では、室内の制御された培養環境下で *Chattonella marina* と *H. akashiwo* の競合を考慮した培養実験を行い、両種の増殖-競合数理モデルの構築を試みた。モデルによる解析値を実験値や既往の解析値と比較した結果、水温 20°C の限定した条件ではあるものの、提案したモデルが両種の増殖-競合過程を概ね再現することを確認した。また、春季の赤潮形成における *H. akashiwo* の優位性が増殖率や競争係数のモデルパラメータによって定量的に説明できること、両種の増殖-競合特性が水温 20~25°C 近傍で大きく変化し得ることを論じた。未解明であるラフィド藻の赤潮発生-発達機序の解明に向けて本研究アプローチの有用性を確認した。

1 緒言

Chattonella 属や *Heterosigma akashiwo* に代表されるラフィド藻による赤潮は、発生水域の環境悪化に加え、それらの強力な魚毒性により沿岸養殖業に多大な被害をもたらしてきた。鹿児島県では、長島町沖を中心に *Chattonella* 赤潮により 2010 年は 36 億円、2016 年にも 1 億円を超える被害が生じ、その対策は喫緊の課題である。しかしながら、赤潮は、水温、塩分、光強度、栄養塩濃度などの水域の水質・気象条件に加え、プランクトンの種や株、プランクトン同士の競合によっても発達特性が異なるため、赤潮発生・発達機序は複雑で未だに解明されていない点が多い。赤潮は、その発生の初期段階に発達を抑制して終息させることが重要であり、そのためには赤潮の発生時期を早期に特定することが重要である。しかし、現状では赤潮の発生タイミングを特定することはできていない。

既往の研究¹⁾⁻³⁾によれば、本研究で対象とする *Chattonella marina* と *H. akashiwo* の発生時期のキーファクターは水温であると考えられる。また、野外観測と室内培養実験の結果から、まず両種は同時に赤潮にならない。*C. marina* が夏季~初秋、*H. akashiwo*

が春季～初夏に赤潮を形成し、その形成時期は一般に異なる。両種とも広温性を有し、最適温度は概ね 25～30℃に存在する。水温の耐性の違いによって *C. marina* と *H. akashiwo* の間で時期的な棲み分けが生じていると考えられるが、水温が優占種の季節的な交代に及ぼす影響や温度条件による両種の競合具合などを詳細に検討した事例はこれまで報告されていない。

本研究では、*C. marina* と *H. akashiwo* の水温に対する増殖-競合特性を解明するために、まず両種の成長が良好でかつ鹿児島近海の春季の沿岸水温を想定した 20℃の条件で室内バッチ培養実験を行い、両種の増殖-競合過程を表す数理モデルの構築を試みた。実験値および既往の解析値との比較によって、構築したモデルの妥当性を確認したうえで、同モデルによって春季における *H. akashiwo* の赤潮形成の優位性が増殖率や競争係数のモデルパラメータによって定量的に説明できることを論じた。また、*C. marina* と *H. akashiwo* の競合特性が 20～25℃近傍で大きく変化する可能性を指摘し、対象とするラフィド藻赤潮の発生-発達機序の解明に向けて本研究アプローチの有用性を確認した。

2 モデル式

C. marina と *H. akashiwo* の競合状態について、両種の個体数（細胞密度）をそれぞれ x と y とし、次のロトカ-ボルテラ競争モデル^{4), 5)}で与える。

$$\frac{dx}{dt} = r_x x \left[1 - \frac{(x + ay)}{K_x} \right] \quad (1) \quad \frac{dy}{dt} = r_y y \left[1 - \frac{(bx + y)}{K_y} \right] \quad (2)$$

ここで r は増殖率、 K は環境収容力、 t は時間であり、添字の x と y は *C. marina* と *H. akashiwo* をそれぞれ示す。 a と b は競争係数と呼ばれ、 a は *H. akashiwo* が *C. marina* の増殖を抑制する程度を表し、 b はその逆を表す。上式の解法には Runge-Kutta 法を適用し、VBA によって細胞密度の数値解を求めた。すなわち、式(1)と(2)に基づいた数値解析によって、*C. marina* と *H. akashiwo* を同一培地で混合培養した場合の各細胞密度の時間変化をそれぞれ算出した。

一方、両種の単独成長モデルを式(1)と(2)から以下のように誘導した。式(1)と(2)において $a=b=0$ のとき、競合相手への抑制は無効となり両式はそれぞれ単独の成長を表すロジスティック方程式となる。得られた各微分方程式を解くことで、 x と y は次の時間 t の関数式で表される。

$$x(t) = K_x / \left(C_x e^{-r_x t} + 1 \right) \quad (3) \quad y(t) = K_y / \left(C_y e^{-r_y t} + 1 \right) \quad (4)$$

ここで C は積分定数であり、各種の $t=0$ における初期細胞密度から決定される。上式より、*C. marina* と *H. akashiwo* を単独培養した場合の各細胞密度の時間変化が求められる。

モデルパラメータ r 、 K 、 a 、 b は、各式による細胞密度の計算値を実測値と比較することによって決定した。まず、式(3)と(4)による細胞密度の計算値を各種の単独培養実験値とフィッティングし、 r と K を検定した。次に、検定した r と K を式(1)と(2)に用

い、両式による細胞密度の計算値を各種の混合培養実験値とフィッティングすることによって a と b を検定した。実際のフィッティングでは、平均二乗対数誤差の平方根 RMSLE (Root Mean Squared Logarithmic Error) を最小化するようにした。検定したパラメータの妥当性は、検定で使用した実験値とは異なる実験値との比較によって検証した。以上より、これらのパラメータを *C. marina* と *H. akashiwo* の単独培養と混合培養の実験結果から決定することにより、目的とする両種の増殖-競合モデルを構築した。

3 培養実験

室内バッチ培養実験では、国立環境研究所で保存された無菌株 NIES-559 と NIES-6 を、*C. marina* と *H. akashiwo* の培養株としてそれぞれ入手して用いた。両株を入手後、各種を後述する培養条件で数カ月間以上継代培養し、設定した培養条件に十分に馴致させた。

培地条件は以下のように設定した。鹿児島湾から採水した塩分 29.6 のろ過海水を 121°C で 30 分間オートクレーブ (LBS-325、トミー精工) し、滅菌済み細胞培養フラスコに 180 ml 分取した。培地の栄養塩濃度を調整するために、粉末状のダイゴ IMK 培地 (和光純薬) から 50 倍濃縮ろ過滅菌培液を別途作製した。この濃縮培液を用いて、試験培地の溶存無機態窒素 DIN を 2,400 μM および溶存無機態リン DIP を 38.6 μM に調整し、*C. marina* と *H. akashiwo* の成長を制限しない高栄養塩濃度条件とした。

作製した培地に *C. marina* と *H. akashiwo* を添加し、以下に示す条件で培養した。同じ条件で培養した前培養培地から *C. marina* と *H. akashiwo* の初期細胞密度が同等となるように本培養培地に添加し、各種の単独培養ならびに両種の混合培養の試験区を作製した。各培地を、室温 20 \pm 1°C、12 時間周期の明暗条件で明条件時の光量子量 37.1 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ のように設定したインキュベータ (CLE-303、トミー精工) 内で約 1 カ月間培養した。培養期間では概ね 1 日間隔で各培地から 0.3 ml を計数板 (MPC-200、松浪硝子工業) に分取し、細胞数を倒立顕微鏡 (IX70、オリンパス) で計数して細胞密度を求めた。以上の実験を、初期細胞密度が高密度の約 2,000 cells ml⁻¹ および低密度の約 5 cells ml⁻¹ の各条件で異なる日にそれぞれ実施した。

4 結果と考察

まず、単独培養モデル式(3)と(4)による *C. marina* と *H. akashiwo* の細胞密度の時間変化を実験値と比較することによって、両種の r と K をそれぞれ検討した。初期細胞密度が 2,000 cells ml⁻¹ 程度の高密度条件の培養実験との比較により、 $r_x = 0.31 \text{ day}^{-1}$ (分裂速度換算値で 0.45 div. day⁻¹)、 $K_x = 26,600 \text{ cells ml}^{-1}$ 、 $r_y = 0.65 \text{ day}^{-1}$ (分裂速度換算値で 0.94 div. day⁻¹)、 $K_y = 268,000 \text{ cells ml}^{-1}$ を得た (Fig. 1(a) および Table 1)。これらの妥当性を検証するために、約 5 cells ml⁻¹ の低密度条件で別途培養した実験結果とモデル計算値を比較した結果、両種とも計算値は実測値と概ね一致した (Fig. 1(b))。ここで得られたパラメータに関し、比較可能な既往の文献値として *C. antiqua* と *H. akashiwo* の増殖-競合特性を調べた Qiu et al.⁶⁾ のデータがある。Qiu et al. によれば、 r と K は *C.*

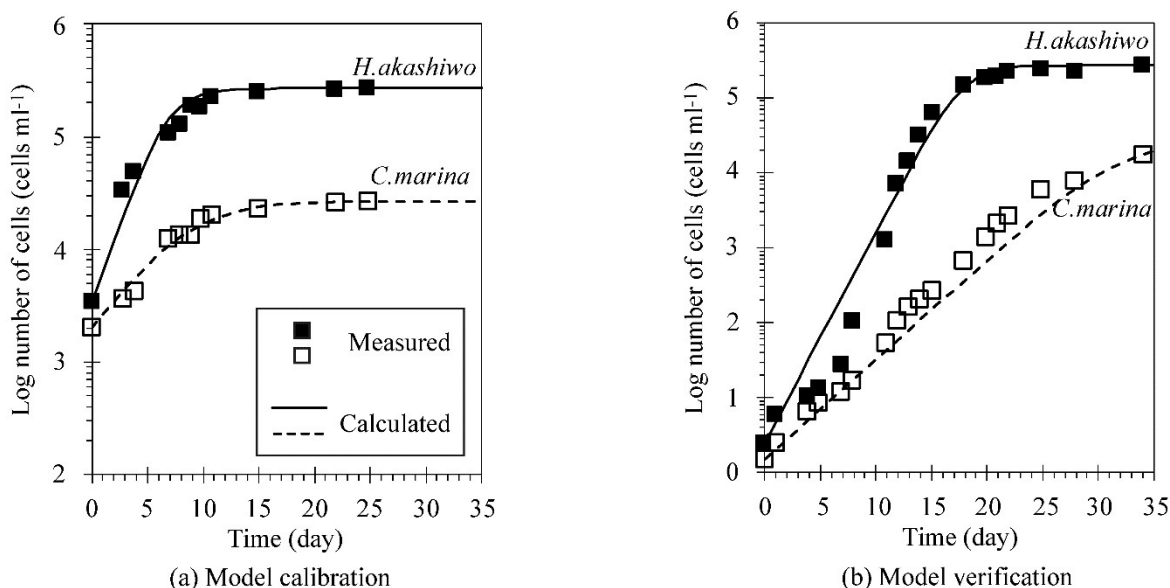


Fig. 1 Comparisons of measured and calculated cell densities of *C.marina* and *H.akashiwo* in mono-algal cultures

Table 1 Estimated parameters used for mono- or bi-algal model simulations

Species	Carrying capacity	Growth rate	Competition coefficient
<i>C.marina</i>	$K_x = 26,600 \text{ cells ml}^{-1}$	$r_x = 0.31 \text{ day}^{-1}$ (0.45 divisions day^{-1})	$b = 10$
<i>H.akashiwo</i>	$K_y = 268,000 \text{ cells ml}^{-1}$	$r_y = 0.65 \text{ day}^{-1}$ (0.94 divisions day^{-1})	$a = 0.17$

antiqua で 0.42 day^{-1} (分裂速度換算値で $0.60 \text{ div. day}^{-1}$) および $66,167 \text{ cells ml}^{-1}$ 、*H. akashiwo* で 0.90 day^{-1} (分裂速度換算値で $1.30 \text{ div. day}^{-1}$) および $540,009 \text{ cells ml}^{-1}$ である。一般に *H. akashiwo* の r と K は *Chattonella* 属よりも大きい (たとえば山砥ら³⁾、Qiu et al.⁶⁾、Zhang et al.⁷⁾)。この傾向は本研究で得られた r と K についても同様であり、各絶対値も既往の文献値⁶⁾、⁷⁾と類似した。以上より、検定した r と K は、春季を想定した水温 20°C の両種の増殖特性を表すパラメータとして妥当と判断した。なお、Qiu et al. の r と K が本研究のそれらよりも大きかった要因は、Qiu et al. の培養温度が両種の適温範囲の 25°C であったこと、培養時の光強度が最適強度により近い $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ であったことによるものと考えられる。

次に、混合培養モデル式(1)と(2)により *C. marina* と *H. akashiwo* の競合過程を推定し、実験結果との比較によって a と b を評価した。初期密度が高密度条件の混合培養実験値に対してモデル計算値をフィッティングした結果、 $a = 0.17$ 、 $b = 10$ を得た (Fig. 2(a)および Table 1)。この数値の妥当性を低密度条件で別途行った混合培養実験と比較して調べたところ、両種とも計算値は実測値と概ね一致した (Fig. 2(b))。上述の Qiu et al. によれば、*C. antiqua* と *H. akashiwo* に対して得られた $a = 0.114$ および $b = 10.6$ であ

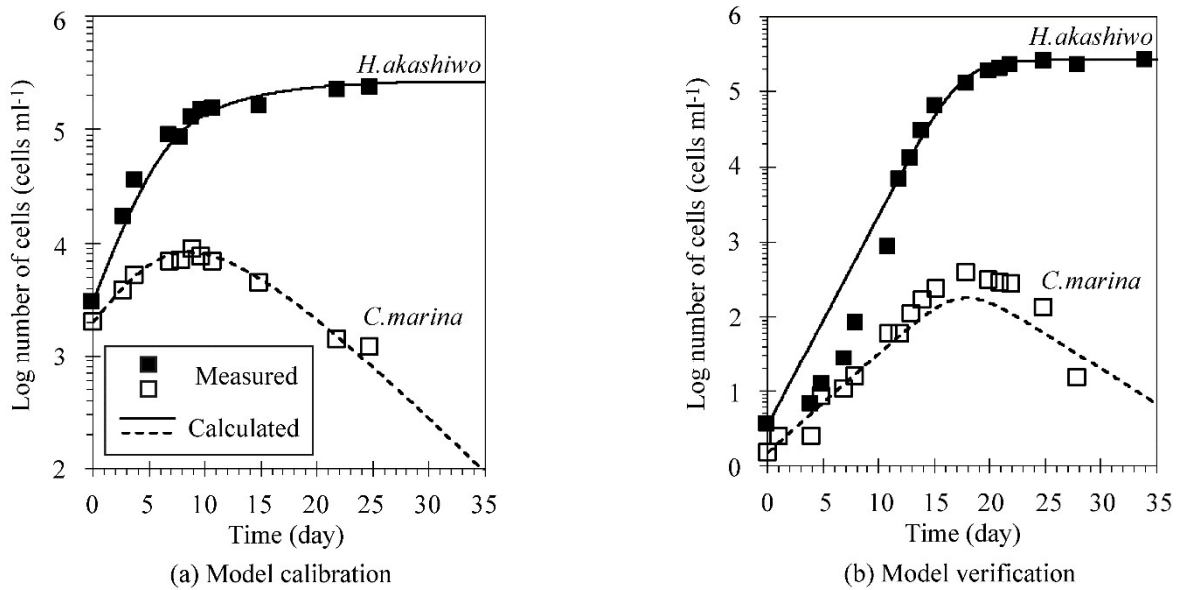


Fig. 2 Comparisons of measured and calculated cell densities of *C.marina* and *H.akashiwo* in bi-algal cultures

り、本研究の検定値と類似する。ここで、式(1)より a は *H. akashiwo* の 1 細胞の影響を *C. marina* の 1 細胞分に換算する係数であり、式(2)より b はその逆を示す係数と考えることができる。こうした考えに基づいて *C. marina* と *H. akashiwo* の競合関係を考察すると、*H. akashiwo* は *C. marina* の 0.1 細胞分の資源を消費するに過ぎないが、*C. marina* の資源消費は *H. akashiwo* の 10 細胞分に相当するため、競争係数で評価すると *C. marina* の競争力は *H. akashiwo* より強い。競合種の生態学的特性が競争係数 a と b の大小関係に及ぼす影響は不明であるが、本研究または Qiu et al.により、 a と b の大小関係は単純に細胞サイズによって説明できるかもしれない。つまり、一般にサイズの大きい *Chattonella* 属⁸⁾が *H. akashiwo* よりも多くの資源を消費し、より強い競争力を発揮するため、 $b > a$ となると考えられる。この点に関しては、*Heterocapsa circularisquama*⁸⁾よりもサイズが大きいと思われる *Gymnodinium mikimotoi*⁸⁾の競争係数が大きい⁹⁾ことも報告されている。以上より、検定した a と b は、春季を想定した水温 20°C の両種の競合特性を表すパラメータとして妥当と判断した。

構築したモデルによる *C. marina* と *H. akashiwo* の赤潮発生-発達機序の解明に向け、西日本沿岸域における季節的な優占種交代機序について水温との関係から考察する。20°C 条件で構築した本モデルを用いて、様々な初期細胞密度条件に対する両種の競合具合を調べた結果、どのような条件であっても競合の末 *H. akashiwo* が生残り、*C. marina* は死滅した。この結果は、春季に相当する 20°C の温度条件下で両種が競合した場合、*H. akashiwo* が *C. marina* よりも有利であることを示す。この *H. akashiwo* の優位性を両種の増殖-競合を特徴づけるモデルパラメータ (Table 1) からさらに考察する。*C. marina* と *H. akashiwo* の増殖率 r_x と r_y は後者が前者よりも約 2 倍大きい、競争係数 b と a は前者が後者よりも 60 倍ほど大きい。モデル式(1)と(2)から明らかなように、相手の

増殖を実質的に抑制する効果は低密度条件では極めて小さいため、赤潮初期の低密度条件では *C. marina* の比較的大きい競争力はほとんど機能しない。つまり、*H. akashiwo* は *C. marina* の強い競争力をも凌駕する増殖速度によって春季の赤潮形成において極めて大きい優位性を持つ。しかしながら、20°Cよりも高温になった場合は、両種の競合結果が大きく異なる可能性が高い。たとえば、*C. antiqua* と *H. akashiwo* が 25°Cで競合した場合、どのような初期細胞密度条件であっても *C. antiqua* が必ず生残し、*H. akashiwo* は全滅する⁶⁾ことが報告されている。この結果と本研究結果より、*C. marina* と *H. akashiwo* の競合関係において、生残種は 20~25°Cで入れ替わり、この水温帯またはその近傍に両種の優占種交代の温度境界が存在するものと考えられる。

5 結論

本研究では、*C. marina* と *H. akashiwo* の増殖-競合特性について、温度条件を 20°Cに限定し、その他は両種の成長を制限しない条件で検討した。培養実験値および既往の解析値との比較によって、構築したモデルは 20°Cにおける両種の増殖-競合過程を概ね推定可能である。また、春季の赤潮形成における *H. akashiwo* の優位性および水温が季節的な優占種の交代に及ぼす影響について、構築したモデルによる数値解析によって定量的に評価・説明することができた。今後、様々な培養条件ならびに各条件におけるモデル推定値の再現性について検討を重ねる必要はあるが、本研究アプローチが複雑なラフィド藻の赤潮発生-発達機序の解明に有効であると考えられる。

6 謝辞

本研究を遂行するにあたり、助成して頂いた公益財団法人サンケイ科学振興財団に深く感謝いたします。

7 引用文献

- 1) 矢持進. 1984. 大阪湾に出現する赤潮鞭毛藻 6 種の増殖に及ぼす水温の影響. *Bulletin of Plankton Society of Japan* **31**: 15–22.
- 2) 山口峰生, 今井一郎, 本城凡夫. 1991. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella antiqua* と *C. marina* の増殖速度に及ぼす水温、塩分および光強度の影響. *日本水産学会誌* **57**: 1277–1284.
- 3) 山砥稔文, 坂口昌生, 岩滝光儀, 松岡數充. 2006. 諫早湾に出現する有害赤潮鞭毛藻 4 種の増殖に及ぼす水温、塩分の影響. *日本水産学会誌* **72**: 160–168.
- 4) 巖佐庸. 1990. 数理生物学入門. 共立出版: 1–17.
- 5) N. J. Gotelli. 2008. *A Primer of Ecology, Fourth Edition*. Sinauer Associates: 99–103.
- 6) X. Qiu, Y. Yamasaki, Y. Shimasaki, H. Gunjikake, T. Shikata, T. Matsubara, S. Nagasoe, T. Etoh, S. Matsui, T. Honjo, Y. Oshima. 2011. Growth interactions between raphidophytes *Chattonella antiqua* and *Heterosigma akashiwo*. *Thalassas* **27**: 33–45.
- 7) Y. Zhang, F. X. Fu, E. Whereat, K. J. Coyne, D. A. Hutchins. 2006. Bottom-up controls on

a mixed-species HAB assemblage: A comparison of sympatric *Chattonella subsalsa* and *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) isolates from the Delaware Inland Bays, USA. *Harmful Algae* **5**: 310–320.

- 8) 岩国市立ミクロ生物館. 2011. 日本の海産プランクトン図鑑. 共立出版: 72–73, 90, 123–129.
- 9) T. Uchida, S. Toda, Y. Matsuyama, M. Yamaguchi, Y. Kotani, T. Honjo. 1999. Interactions between the red tide dinoflagellates *Heterocapsa circularisquama* and *Gymnodinium mikimotoi* in laboratory culture. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **241**: 285–299.

Growth-competition mathematical model of the harmful raphidophytes
Chattonella marina and *Heterosigma akashiwo*
to early predict the bloom initiation

Yuji ITO

Department of Environmental Sciences and Technology, Faculty of Agriculture,
Kagoshima University, 1-21-24 Korimoto, Kagoshima 890-0065, Japan
E-mail: k5070578@kadai.jp

To consider an effective method for obviating harmful algal bloom by the raphidophytes such as *Chattonella* and *Heterosigma akashiwo*, we must understand mechanism of the bloom initiation and development. However, it is difficult to predict the bloom occurrence because of complicated physicochemical and biological conditions in coastal waters. We tried to develop a growth-competition mathematical model of *Chattonella marina* and *H. akashiwo* using experimental data from the laboratory cultures. Through comparison of data analyzed by our proposal model with the experimental and previous data, we found

that the model largely estimated the processes of growth and competition for both species, but restricted condition of only 20°C temperature. We also found that the model parameters growth rates and competition coefficients could quantitatively explain the superiority of *H. akashiwo* in the spring blooming. Moreover, the analysis results indicated that the situations in growth and competition of both species could vary in temperature range approximately from 20 to 25°C. The methodology of this study is valid for revealing mechanism of the bloom initiation and development by harmful raphidophytes.