

## 沿岸性浮遊珪藻類の休眠期細胞に関する生理生態学的研究

板倉 茂

### Physiological Ecology of the Resting Stage Cells of Coastal Planktonic Diatoms

Shigeru Itakura

**Abstract** The purpose of this study was to investigate the morphology, abundance, temporal distribution and physiology of the resting stage cells of planktonic diatoms in the coastal bottom sediments, in order to elucidate the ecological role of these resting stage cells in their natural environment.

Planktonic diatoms are major components in temperate coastal waters where environmental conditions fluctuate drastically. Within these coastal environments, there are many "loss processes" that remove phytoplankton biomass from the water column: i.e. nutrient depletion, hydraulic wash out, sedimentation, grazing by zooplankter, bacterial or viral infection and allelopathic interaction. Accordingly, the life history of diatoms will reflect adaptations for survival in such fluctuating coastal environments. Indeed, the ability to withstand unfavorable periods, or to escape from their effects, may be a prerequisite for the coastal planktonic life. Formation of resting stage cells (i.e. resting spores and resting cells) is a widely recognized phenomena for planktonic diatoms. Among the resting stages of planktonic diatoms, "resting spores" are heavily silicified stages that are morphologically distinct from vegetative cells. "Resting cells", on the other hand, are externally similar to vegetative cells, with altered cytoplasmic characteristics. Diatom resting stage cells are traditionally considered as overwintering forms, which could provide seed stocks for subsequent blooms when conditions become favorable. However there is a paucity of information on their persistence in bottom sediments, and the fate of these resting stage cells in natural environment is also unknown. Consequently, the ecological function of diatom resting stage cells remains mysterious.

The present study describes the following characteristics and functions of diatom resting stage cells: 1) persistence in bottom sediments at a substantial density ( $10^3$  to  $10^6$   $g^{-1}$  wet sediments); 2) long survival in sediments, for several months or years; 3) no obvious seasonal change in germination ability; 4) short period of the innate dormancy (few days to weeks); 5) rapid germination (within 1 to 2 days) which is triggered by light ( $> 10 \mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ); 6) germination ability at a broad range of water temperature (5 to 25°C). These results suggest that the diatom resting stage cells would ensure short- and long-term survival of planktonic diatoms within highly fluctuating coastal environments, and they would be the source of opportunistic and autochthonous diatom blooms in the water column.

**Key words:** diatoms, resting stage cells, resting spores, resting cells, bottom sediments

2000年1月24日受理 (Accepted on January 24, 2000)

瀬戸内海区水産研究所業績 A 第12号 (Contribution No. A 12 from National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea)  
板倉 茂: 瀬戸内海区水産研究所 〒739-0452 広島県佐伯郡大野町丸石2-17-5 (S. Itakura: National Research Institute of Fisheries and Environment of Inland Sea, 2-17-5 Maruishi, Ohno, Saeki, Hiroshima 739-0452, Japan)

## 目 次

## 緒 言

## 第1章 浮遊珪藻類休眠期細胞：既往知見ならびにその形態と分布

## 第1節 浮遊珪藻類休眠期細胞に関する既往知見

## 第2節 瀬戸内海の海底泥からの休眠期細胞の分離とその特徴の記載

## 第3節 瀬戸内海 of 海底泥中における休眠期細胞の水平分布

## 第4節 広島湾における浮遊珪藻類栄養細胞の出現と海底泥中の休眠期細胞の動態

## 1 長期変動

## 2 短期変動

## 第2章 浮遊珪藻類休眠期細胞の形成要因

第1節 夏季播磨灘の環境条件と *Chaetoceros* 休眠胞子の分布との関係第2節 室内培養条件下における *Chaetoceros* 休眠胞子の形成第3節 室内培養条件下における *Skeletonema* 休眠胞子の形成

## 第3章 浮遊珪藻類休眠期細胞の生残，休眠と発芽

## 第1節 休眠期細胞の生残期間に関する検討

## 1 保存海底泥試料中における珪藻類休眠期細胞の生残期間

## 2 生残期間に及ぼす水温の影響

## 第2節 内因性休眠期間に関する検討

## 第3節 珪藻類休眠期細胞の発芽条件

## 1 休眠期細胞の発芽に及ぼす光強度の影響

## 2 休眠期細胞の発芽に及ぼす水温の影響

## 第4章 沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生態学的役割についての考察（総括）

## 謝 辞

## 引用文献

近年，我が国の水産業をとりまく状況は大きく変化した。すなわち，国連海洋法条約の批准に伴った200海里経済水域の完全実施，漁獲可能量の適切な管理を目的としたTAC制度の導入，あるいは環境問題への関心の高まり等に対応して，環境と調和した水産業の持続的発展が求められるようになってきた。そのため，水産の研究においても水産業の対象種だけでなく，生態系を構成するすべての生物を研究対象とする必要性が指摘されている。例えば，農林水産研究基本目標の中では，生態系構成要素の特性と相互作用及び地球規模での物質循環の解明，すなわち海洋における生態系を構成する生物や非生物要素の機能・特性とそれらの相互作用の解明が今後の研究の重点化方向のひとつとして示されている。

珪藻類は，海水，汽水，淡水のいずれの環境においても観察される微細藻類であり，その中に含まれる種は10,000種以上にも達すると考えられている（例えば，Guillard and Kilham 1977）。このことは，珪藻類が地球上で最も広範囲に存在する藻類であることを示すと同時に，炭素と珪素の循環に大きな役割を果たしていることを示している（Round *et al.* 1990）。また珪藻類は，古くから「海の牧草」と認識され（例えば，Cupp 1943），海域の一次生産者として，あるいは水産増養殖における初期餌料として重要な役割を持つことで知られてきた。さらに珪藻類は，水質（汚染度等）についての指標生物としても早くから用いられてきた生物であり（Guillard and Ryther 1962, Werner 1977），化石として残された珪藻類の蓋殻を調べ，ある地層における珪藻類の優占種を分析することで過去の気候や環境の変動を推測する試みも活発に行われており，いわゆる温室効果や汚染問題に関する研究の一端としても用いられている（Round *et al.* 1990, van Dam 1993）。以上のことは，“珪藻類が多様な環境条件下で生息する種を含む生物群である”という珪藻類の持つ生態学的な特性を顕著に示している。そして，広範な環境下で生息するそれぞれの珪藻類は様々な生活や分布の様式を有していることがこれまでに明らかにされている（Werner 1977, Round *et al.* 1990）。

沿岸域に出現する浮遊珪藻類は一次生産者として重要であると同時に，最近では珪藻赤潮（Manabe and Ishio 1991, 長井ほか 1995）やヌタ現象（Miyahara *et al.* 1996）の原因種，さらに，海外においては，貝毒原因種（Bates *et al.* 1989）としても取り上げられるようになってきた。水産業の立場から考えると，浮遊珪藻類は魚介類の餌としての重要な役割を持つ有用な生物として認識される一方で，上記のような現象が発生してノリの色落ちやヌタによる漁網の目詰まり，貝類の毒化等が引き起こされた場合には，（水産業に被害を与える）有害藻類としてとらえることもできる。いずれにしても，これら浮遊珪藻類は沿岸水域の漁場環境に対して多大な影響を与える生物であることは明らかであろう。すなわち，浮遊珪藻類の生態を解明することは，沿岸生態系における資源生物の持続的利用のためにも重要な課題の一つとなる。

浮遊珪藻類が特に多く観察される内湾や沿岸域（Werner 1977, Garrison 1984）は，陸域からの影響，あるいは潮汐による海水の流動等のために，環境の時空間的変動が著しく大きい場所である。このような内湾・沿岸域で生息している浮遊珪藻類は，その生活史において，変化しやすい環境に適応した何らかの特徴を有していると推察される。その特徴としてまず挙げられるのは，浮遊珪藻類が生活史の一時期に形成する「休眠期細胞（resting stage cells）」（Hargraves and French 1983, Garrison

1984) と呼ばれる細胞である。休眠期細胞は、外圍の環境変化と珪藻類栄養細胞の出現・消失とを結びつける重要な働きを担っていると推察されてきた (Gran 1912, Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。しかし、現場水域においてこれらの珪藻類休眠期細胞の分布や動態を明らかにした知見はこれまでほとんど見あたらず、その生態的役割は未だに不明な点が多いと指摘されている (Round *et al.* 1990)。すなわち、沿岸域における浮遊珪藻類の出現・消失機構を明らかにするには、これら休眠期細胞の果たしている役割に関する研究をさらに推し進めて行く必要がある。

以上のような背景のもとで、本研究では、特に現場水域 (瀬戸内海) の海底泥中における珪藻類休眠期細胞の分布、生残ならびにその年間を通じた動態把握に焦点を当てた調査を行ない、沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生理・生態学的特徴を明らかにすることを目的とした。

本論文は4章から成り、第1章では、まず、これまでに報告された珪藻類休眠期細胞に関する既往知見をまとめ、休眠期細胞が果たす生態的役割を解明するために必要とされる問題点を明らかにした。さらに、瀬戸内海における現場調査を行い、海底泥中に存在している珪藻類休眠期細胞の形態を確認するとともに、海底泥中における分布とその動態を明らかにした。第2章では、現場調査と室内培養実験の結果から、珪藻類の休眠期細胞の形成に関与する環境条件 (栄養塩濃度や光強度) の検討を行った。第3章では、珪藻類休眠期細胞の生残、休眠ならびに発芽に関与する環境条件について検討した。そして第4章では、本研究で明らかになった成果を総括して、内湾・沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生理・生態学的な特徴とその役割について論じた。

## 第1章 浮遊珪藻類休眠期細胞：既往知見ならびにその形態と分布

これまで数多くの微細藻類において、休眠細胞や休眠胞子、シストなどと呼ばれる休眠期の細胞が存在することが知られているが (Davis 1972)、浮遊珪藻類が形成する休眠胞子 (resting spores) に関しても、比較的早くからその報告が散見される (例えば Karsten 1905, Gran and Yendo 1914)。そして、比較的早い時期から、珪藻類が形成する休眠胞子は沿岸域で浮遊珪藻類が個体群を維持するための重要な手段であると考えられてきた。最初にこのような考え方を示したのは、Gran (1912) であり、彼は、休眠胞子を底生期の休眠期細胞であると考えた。その仮説を要約すると、1) 休眠胞子は栄養細胞の増殖に不適な環境下で形成される。2) 形成された休眠胞子は速やかに沈降し、増殖に好ましくない時期を、底生性の休眠期細胞として過ごす。3) 再び増殖に適した環境

が訪れた時、休眠胞子は水中に巻き上げられ、シード・ポピュレーションとして機能する。という内容にまとめられる (Garrison 1984)。Gran の提唱したこの仮説はその後、ほとんど“公理的に”と言っていいほど正しいものとして扱われてきた。しかし、実際にこの仮説を現場水域において実証しようとした研究例は少ない。そのため最近になっても、珪藻類の休眠期細胞が果たしている生態学的な役割については不明な点が多い、という指摘がしばしば見受けられる (Hargraves and French 1983, Garrison 1984, Round *et al.* 1990)。

現場における珪藻類休眠期細胞の存在に関しては、海底泥を濾過海水や培養液等に懸濁して培養すると浮遊珪藻類の栄養細胞が出現してくる事実が確認されており、珪藻類の休眠期細胞が実際に海底泥中に存在していることが示唆されてきた (Gucler and Gross 1964, Zgurovskaya 1977, Imai *et al.* 1984, 矢持 1989)。しかし、顕微鏡による観察を行って海底泥試料から珪藻類の休眠期細胞を分離・培養し、その存在および形態を確認した報告例は非常に少ない。さらに、その分布や季節変化についての情報となると、これまでに殆ど見当たらないのが現状である。上述の Gran の仮説を検証し、現場水域で珪藻類休眠期細胞が果たす役割を解明するためには、まず最初に、珪藻類休眠期細胞に関するこれら基本的な情報を得ることが必要とされよう。

本章では、珪藻類休眠期細胞に関する既往知見を整理するとともに、瀬戸内海 of 海底泥中に存在する浮遊珪藻類休眠期細胞の形態と分布を把握することを目的とした。第1節では既往知見を概説し、これまでに報告された基本的な情報を整理した後、未だ明らかにされていない問題点を指摘した。第2節以降に於いては、指摘された問題点を明らかにすることを目的として現場調査を実施し、その結果を示した。すなわち第2節では、現場で採取した海底泥中から浮遊珪藻類休眠期細胞と思われる細胞を分離・培養し、出現した栄養細胞の形態等の情報から、分離された休眠期細胞の種 (あるいは属) の査定を試みた。第3節では、終点希釈法 (MPN 法) を用いて瀬戸内海 of 海底泥中における発芽可能な休眠期細胞の水平分布を調査し、その分布の特徴を把握した。第4節では、現場底泥中の珪藻類休眠期細胞密度の長期的および短期的変動を把握し、珪藻類休眠期細胞が果たしている生態学的役割について考察した。

### 第1節 浮遊珪藻類休眠期細胞に関する既往知見

本節では、これまでに報告された珪藻類休眠期細胞に関する情報を整理することを目的として、浮遊珪藻類休眠期細胞の形態と分布、形成・発芽条件および生理的特徴に関する既往知見を、Hargraves and French (1983), Garrison (1984), Round *et al.* (1990) ならび

に McQuoid and Hobson (1996) の総説等に基づいて概説する。

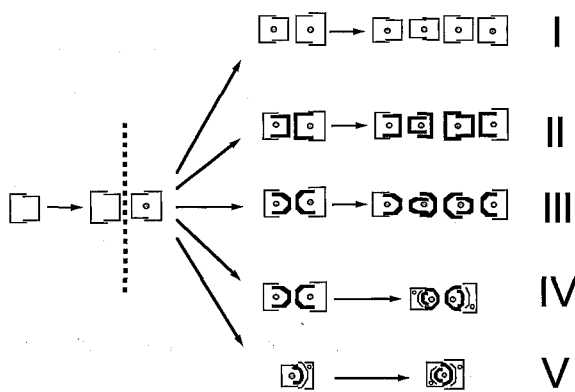
形態、形成過程と分布 珪藻類の休眠期細胞 (resting stage cells) は、主にその外見的な特徴の違いから、休眠孢子 (resting spores) と休眠細胞 (resting cells) の2つに分けられている (Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。一般的に珪藻類の休眠期細胞としてよく知られているのは、“休眠孢子”と呼ばれる細胞である。休眠孢子 (resting spore) とは、栄養細胞の等割、不等割、または細胞質の有糸分裂で生じた4個、2個、または1個の特殊な細胞で (Fig. 1-1, III~V)、厚い珪酸質の殻壁を持ち、多くは側筒 (girdle) が無く、両蓋殻 (初生蓋殻; primary valve, および後生蓋殻; secondary valve) のみからなる細胞であると説明されている (Anonymous 1975, 高野 1987) が、*Thalassiosira* や *Detonula* のように、休眠孢子に側筒を有する種も存在する (Stosch 1967, Syvertsen 1979, Hargraves and French 1983)。休眠孢子は、主に中心目の珪藻類において無性的に形成される細胞で、その蓋殻には、厚い珪酸質の蓄積や独特の装飾物などの特徴が認められ (Rines and Hargraves 1988)、栄養細胞とは異なった外部形態を示す場合が多い (Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。そのため、外部形態が栄養細胞と著しく異なる休眠孢子が、全く別の種として記録されたこともあった (Hargraves 1986, Round *et al.* 1990)。ただし、その外部形態の変化の程度は種によって異なり、*Chaetoceros* のように栄養細胞と休眠孢子が全く異なった形態的特徴を持つ種がある一方で、*Detonula*,

*Eucampia*, *Stephanopyxis* や *Thalassiosira* spp. のように、両者の外部形態の違いがそれほど顕著でない種も知られている (Hargraves and French 1983, Hargraves 1986)。

これまでに、沿岸域性浮遊珪藻類の中で休眠孢子を形成することが知られている種としては、*Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp., *Leptocylindrus danicus*, *Stephanopyxis* spp., *Ditylum brightwellii* 等が挙げられる。McQuoid and Hobson (1996) によれば、珪藻類の中で休眠孢子的形成が知られている種は133種で、その内118種が海産珪藻類であるという。なお、休眠孢子を形成する118種の海産珪藻類の内、4種 (*Chaetoceros neogracilis*, *C. pseudocurvisetus*, *Thalassiosira nordenskiöldii*, *T. rotula*) については、休眠孢子と休眠細胞の両方を形成することが知られている (Cupp 1943, Hargraves and French 1975, Durbin 1978, Syvertsen 1979, Hollibough *et al.* 1981, Krawiec 1982, Stockwell and Hargraves 1986, Rines and Hargraves 1988, Kuwata and Takahashi 1990, Kuwata *et al.* 1993, McQuoid and Hobson 1995, Oku and Kamatani 1995)。

休眠孢子的形成過程には3つの型が知られており、休眠孢子的の殻がもとの栄養細胞 (母細胞) の殻に対してどの位置に形成されるかによって、外生 (exogenous)、半内生 (semi-endogenous)、内生 (endogenous) のそれぞれに区分される (Fig. 1-1, III~V) (Syvertsen 1979, Hargraves and French 1983, Garrison 1984, 高野 1987)。このような休眠孢子的の形成過程は、通常の栄養細胞の二分分裂とは違う2つの特徴を持っている。ひとつは、色素体や貯蔵物質が、2つの娘細胞のうちの1つに集中する、不等細胞質分裂 (unequal cytokinesis) が起こる点、もうひとつは、上下2つの蓋殻に多量の珪酸質を沈着させるための有糸分裂 (細胞分裂を伴わない場合もある) を、少なくとも続けて2回しなければならぬ点である (Syvertsen 1979, Hargraves and French 1983, 谷口 1991)。これらのことから、後述の休眠細胞の形成と比較して、休眠孢子的形成の方がより多くのコスト (エネルギー) を必要とするものと考えられている (Hargraves and French 1983, Sicko-Goad 1986, Fryxell 1983)。

Hargraves and French (1983) や Hargraves (1984) は、形態的に同一の種の中においても、クローンによって休眠孢子的形成率が異なり、場合によっては全く休眠孢子的を形成しないクローンがあることを明らかにした。このことは、クローンによって休眠孢子的の形成を引き起こす環境条件 (水温・光・栄養塩濃度等) が異なる、あるいは休眠孢子的がある限られた大きさの細胞のみで形成される (Drebes 1966) ことを示しているとも判断できるが (Round *et al.* 1990)、形態的に同一とされる種内において、異なった生残の様式を有するクローンが存在す



(From Garrison 1984)

Fig. 1-1. Model for the morphological relationships between vegetative cells and resting stages. I: Normal vegetative division. II: resting cell development. III: exogenous resting spore development. IV: semi-endogenous resting spore development. V: endogenous resting spore development. Partially formed spores in II and III may or may not continue development. (from Garrison 1984)

る可能性を示すものとも考えられている。

一方で、珪藻類全体では、休眠胞子を形成しない、あるいはその形成が知られていない種の方が多い。そのような種の中には、“休眠細胞”(resting cell)と呼ばれる休眠期細胞を形成するものがある(Lund 1954, Anderson 1975, 1976, Sicko-Goad 1986, Sicko-Goad *et al.* 1989)。休眠細胞は、休眠胞子の場合と異なり、通常の細胞分裂とほぼ同様な過程を経て形成されると考えられ(Fig. 1-1, II), その外部形態は栄養細胞と非常によく似た特徴を持つ(Garrison 1984)。ただし、細胞内に色素が暗化した(暗褐色の)細胞質の凝集体を有するなどの特徴によって、栄養細胞と区別することが可能であるとされている(Anderson 1975, Garrison 1984, Sicko-Goad 1986, Sicko-goad *et al.* 1989)。珪藻類の中で休眠細胞を形成すると報告されているのは26種で、その内、海産珪藻類は9種である(McQuoid and Hobson 1996)。

珪藻類休眠期細胞の現場水域における分布に関する知見は非常に少ないが、前述のように、海底泥を濾過海水や培養液等に懸濁して培養すると浮遊珪藻類が出現してくる事実については、いくつかの報告がある(Gucler & Gross 1964, Zgurovskaya 1977, Malone *et al.* 1973, Kashkin 1964, Imai *et al.* 1984, 矢持 1989)。また、倉茂・喜多村(1934), Garrison(1981)および Pitcher(1986, 1990)は、底層水や海底泥中に存在する珪藻類の休眠胞子に関する観察を行っており、海水中に出現する種とこれらの(底層水や底泥の)休眠胞子の種がよく一致するとしている。

形成・発芽条件 一般に珪藻類休眠期細胞は、外圍の環境条件の悪化に応じてその形成が開始されると考えられている(例えば Gran 1912)。実際に、休眠胞子の場合には、これまでに行われた培養実験等の結果から、その形

成に海水中の栄養塩の欠乏、特に窒素の欠乏が最も強い影響力を持っていると判断されている例が多い(Table 1-1)(Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。その一方で、休眠細胞については、栄養塩濃度よりも光強度がその形成に強く影響し、栄養細胞が暗黒条件下に置かれることによって休眠細胞が形成される、という報告がある(Lund 1954, Anderson 1975, 1976)。

休眠胞子の発芽は環境条件の変動によって起こると考えられているが、特に光が発芽の引き金として大きな影響力を持つとされている(Hollibaugh *et al.* 1981, Hargraves and French 1983, Round *et al.* 1990)。同様なことは、休眠細胞の場合でも示唆されている(Sicko-Goad *et al.* 1986)。また、光周期が発芽に影響を及ぼすという知見もある(Eilertsen *et al.* 1995, MacQuoid and Hobson 1995)。

休眠胞子の発芽に際しては、休眠胞子の蓋殻を外して廃棄する種(*Chaetoceros* 等)と、休眠胞子の蓋殻を廃棄せず(細胞の両端に)保持したまま分裂していく種(*Stephanopyxis* 等)が知られている(Hargraves and French 1983, Round *et al.* 1990)。休眠細胞の場合は、蓋殻を廃棄せずに分裂していくので後者に相当すると考えられるが、その過程は発芽(germination)と区別して「rejuvenation」(Sicko-Goad *et al.* 1986, Sicko-Goad *et al.* 1989)と呼ばれることもある。なお、本論文ではこれらの区別を行わず、休眠胞子や休眠細胞が栄養細胞に移行する過程を一括して「発芽」と表現する。

休眠期細胞の生理的特徴 休眠胞子の特色は、色素、特に細胞あたりのクロロフィルの含有量が多く、貯蔵物質の量も多いことである。反対にミトコンドリアの数は少なく、液胞のスペースも小さいと報告されている(Hargraves and French 1975, French and Hargraves

Table 1-1. Variables inducing spore formation (from Hargraves and French 1983)

|                             | N  | P  | Si | Fe | T  | pH  | Light |
|-----------------------------|----|----|----|----|----|-----|-------|
| <i>Cbaetoceros</i> spp. (3) |    |    |    |    |    |     | (-)   |
| <i>C. diadema</i>           | ++ |    |    |    |    |     |       |
| <i>C. sociale</i>           | ++ |    |    |    |    |     |       |
| <i>C. teres</i>             | ++ |    |    |    |    |     |       |
| <i>D. confervacea</i>       | ++ |    |    |    |    | (+) |       |
| <i>D. confervacea</i>       |    |    |    |    |    |     |       |
| <i>E. soleirolii</i>        | +  | +  | +  | ++ | ++ | +   |       |
| <i>L. danicus</i>           | ++ |    |    |    |    |     |       |
| <i>L. danicus</i>           | ++ |    |    |    |    | (+) |       |
| <i>S. palmeriana</i>        | +  | ++ |    |    |    |     |       |
| <i>S. turris</i>            | ++ |    |    |    |    |     |       |
| <i>T. nordenskioldii</i>    | ++ |    |    |    |    | (+) |       |

Note: ++, Strong effect (primary factor); +, lesser effect; (+), has effect when coupled with primary factor; (-), no spores form in darkness in complete media.

1980)。これらの特色は、栄養細胞に比べて、休眠細胞が光の少ない環境により順応できることを示している (Hargraves and French 1983, 谷口 1991)。さらに、細胞内容物の割合には呼吸消費量が少ないこと、また、沈降速度は速くなるが、バクテリアや捕食者 (消化管内の消化酵素) の攻撃に対しても防御力が強いこと、また、乾燥にたいしても抵抗力があることや重金属の毒性にも強いことも報告されている (Hargraves and French 1983)。以上の特色は、休眠細胞が、栄養細胞では耐えられないような劣悪な環境条件下においても生き延びることができるような生理的特徴を備えていることを示していると考えられる (Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。

休眠細胞の生理的特徴についての知見は、休眠細胞と比較すると非常に少ないのが現状であるが、基本的には休眠細胞も休眠細胞と同様な生理的特徴 (環境条件に対する強い耐性) を持つと推察されている (Hargraves and French 1983)。例えば、淡水産珪藻 *Melosira* (= *Aulacoseira*) が形成する休眠細胞は、嫌気的な底泥中 (暗黒条件) で10年以上生残可能であることが報告されている (Lund 1954, Stockner and Lund 1970, Sicko-Goad *et al.* 1986)。

Pfiester and Anderson (1987) は、高等植物の種子の休眠に関する定義を渦鞭毛藻類のシストに適用し、内因性の休眠を "dormancy", 外因性の休眠を "quiescence" として区別した。すなわち、内因性の休眠状態にあるシストは、発芽に適した条件に置かれても発芽できないシストで、一方、外因性休眠状態にあるシストは内因性の休眠が解除され発芽可能な状態にはあるものの、外因的環境条件 (水温, 光, 溶存酸素濃度等) によって発芽が抑えられているシストであるとした。この定義に従うと、鞭毛藻類の *Alexandrium* (渦鞭毛藻) や *Chattonella* (ラフィド藻) のシストは、数カ月以上の内因性休眠期間を持つ (Anderson and Keafer 1987, Imai and Itoh 1987)。一方、珪藻類休眠期細胞の場合、内因性休眠期間はほとんど無いか、或いはあっても非常に短い (数日~1週間程度) 期間であると考えられている (Hargraves and French 1983)。すなわち、珪藻類の休眠期細胞が示す休眠は、環境条件の悪化や好転に応じて発現する休眠、つまり外因性休眠 (quiescence) あるいは、休止 (resting) といわれるものであると考えられている。このような休眠は、一定期間の休眠期を過ぎない限り、たとえ環境条件が好転しても発芽しない内因性休眠とは違い、環境の変化に対してより臨機応変に应答することのできる生態的特徴であると推察されている (Hargraves and French 1983, 谷口 1991)。

休眠期細胞の役割 上述のような珪藻類休眠期細胞の特徴に基づいて、これらの休眠期細胞の持つ生態学的

な役割についていくつかの仮説が提唱されているが (Hargraves and French 1983, Garrison 1984, Smetacek 1985), そのほとんどは、本章の初めに記した、今世紀初頭に提唱された Gran (1912) の仮説に強く影響されている。

この仮説を最初に現場で実証しようとしたのは、Hargraves and French (1975) であり、Narragansett 湾において珪藻の消長についての調査が行われた。しかし、この調査からは、水中に栄養細胞がみられなくなってからしばらくすると湾内の底泥中の休眠期細胞も検出されなくなるため、その後に Narragansett 湾に出現する栄養細胞は湾外から運ばれてくるのであろう、という結論が出された。すなわち、彼らは湾の底泥中にシード・ポピュレーションとなりうる休眠期細胞が存在することを現場で実証できなかった。それに対して Garrison (1981) は、Monterey 湾において *Chaetoceros* 数種の年間の消長を調査し、海水中に *Chaetoceros* の栄養細胞が検出されない時期にも底泥中には休眠細胞が存在することを明らかにし、Gran の仮説は基本的に正しいという結論を導いた。しかしながら、この場合においても、底泥中に存在する休眠期細胞の量や、その季節的変動についての情報は得られていない。また、年間を通して常に海底泥中にこれらの休眠細胞が存在するかどうか、という基本的な問題についても明らかにされなかった。

すなわち、沿岸域で珪藻類休眠期細胞が果たしている生態学的役割を解明する上で最も欠けているのは、現場水域、特に海底泥中における分布、生残期間、年間を通じた休眠期細胞の動態等についての情報であると判断できる。これらの情報の不足は、しばしば、珪藻類休眠期細胞が本当に『休眠期』の細胞として機能しているのか、という疑問が問いかげられる (Round *et al.* 1990) 原因ともなっている。

## 第2節 瀬戸内海の実験室からの休眠期細胞の分離とその特徴の記載

前節で示されたように、これまでに報告されている珪藻類の休眠期細胞は、その多くが現場の海水中、あるいは室内培養条件下 (培養液中) で観察されたものである。一方で、現場水域の海底泥を観察し、その中に存在する珪藻類休眠期細胞を確認した例は非常に少ない。また、例えば *Skeletonema costatum* のように、休眠細胞 (resting cell) の存在が指摘されながら、その形態が明らかにされていない種もある (例えば Wood 1959, Hargraves and French 1975, Hoban *et al.* 1980, Imai *et al.* 1984)。

ここでは、珪藻類休眠期細胞が果たしている生態学的な役割を解明するための第一歩として、瀬戸内海の実験室から珪藻類の休眠期細胞を分離し、実際に現場水域の

海底泥中に存在している珪藻類休眠期細胞の種（あるいは属）とその形態を確認することを目的とした。これまでその形態が不明とされていた *Skeletonema costatum* の休眠期細胞については、特に詳細な観察を行った。

#### 材料と方法

播磨灘 (Fig. 1-2a; St. 33, 1989年5月採泥) および広島湾 (Fig. 1-2b; St. 4 および 5, 1989年3月採泥) において KK 式柱状採泥器 (木俣ほか 1960) を用いて表層の海底泥 (表面から 1 cm 深まで) を採取した。

それぞれの海底泥試料を不透明なプラスチック容器に封入し、11°C の暗黒条件下で3ヶ月以上保存して休眠期細胞探索用の試料とした。探索に際しては、篩 (プランクトン・ネット) を用いて泥試料の 10~100  $\mu\text{m}$  の粒子径画分を取り、もとの泥の重さ (湿重) に換算して 0.1  $\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$  の濃度になるように、滅菌濾過海水に懸濁した。この懸濁液を、倒立型落射蛍光顕微鏡 (TMD-EF2A, Nikon 社製) で観察し、その中に存在する休眠期細胞を探索した。Imai and Itoh (1988) の方法に従い、泥懸濁液の中で青色励起光によってクロロフィル *a* 由来の自家蛍光 (赤色) を発する細胞を探索し、珪藻類の休眠期細胞と思われるものをマイクロピペットで分離した。なお、分離した一部の細胞については発芽試験を行った。すなわち、分離した休眠期細胞を組織培養容器 (96穴, ファルコン社製), あるいは Wall and Dale (1968) のシスト培養法に準じたスライドガラスを使い、改変 SWM-3 培地 (伊藤・今井 1987) を用いて水温約 22°C, 約 50  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の光強度 (白色蛍光灯), 明暗周期 14 hL-10 hD の条件で培養した。培養開始後継続的に観察を行い、休眠期細胞が発芽した場合には、出現してきた珪藻の栄養細胞の形態的特徴から、分離した休眠期細胞の種 (あるいは属) の査定を試みた。

#### 結果および考察

観察した海底泥試料中において、以下の珪藻類の休眠期細胞が確認された。その内数種については休眠期細胞が発芽し、栄養細胞との形態的な対応関係が確認された。なお、それぞれの種あるいは属の査定には、Cupp (1943), 小久保 (1960), Rines and Hargraves (1988), 高野 (1990) 等を参照した。

##### 1. 休眠孢子 (resting spores)

底泥試料中に観察された珪藻類休眠期細胞のうち、休眠孢子と呼ばれる細胞について、以下にその形態的特徴を記す。

##### (1) *Chaetoceros didymus* var. *didymus* Ehrenberg (Plate 1-1)

休眠孢子は殻径が約 20  $\mu\text{m}$  で、広殻環面からみると、ほぼ五角形である。一方の蓋殻 (valve) は突出するが、他方は殆ど平らで、母細胞の基部に接している。いずれの蓋殻もその表面は平滑である。2 個の隣接する細胞が 1 組になって存在し、それぞれが刺毛を有する (Plate 1-1, a)。培養後 1 日目 (Plate 1-1, b) にはすでに発芽しており、栄養細胞 (1 細胞) が出現していた。2 日目には 4 細胞にまで分裂していた (Plate 1-1, c)。なお、発芽の際に孢子の蓋殻は廃棄され、培養器の底面に沈降していた (Plate 1-1, b)。

##### (2) *Chaetoceros hispidum* Brightwell (Plate 1-2)

休眠孢子は幅が約 25  $\mu\text{m}$ 。一方の蓋殻は中央部で膨出し、その表面は平滑である。他方はゆるく一様に膨出し、表面には短い棘を有する (Plate 1-2, a)。培養後 2 日目にはすでに発芽しており、栄養細胞の群体 (8 細胞) が観察された (Plate 1-2, b, c)。

##### (3) *Chaetoceros* sp.-A (Plate 1-3)

休眠孢子は殻径が約 10  $\mu\text{m}$  の大きさである。母細胞の殻の中に存在するが、上下の殻とは接していない。2 つの蓋殻は同程度に膨出しその表面は平滑である。細胞

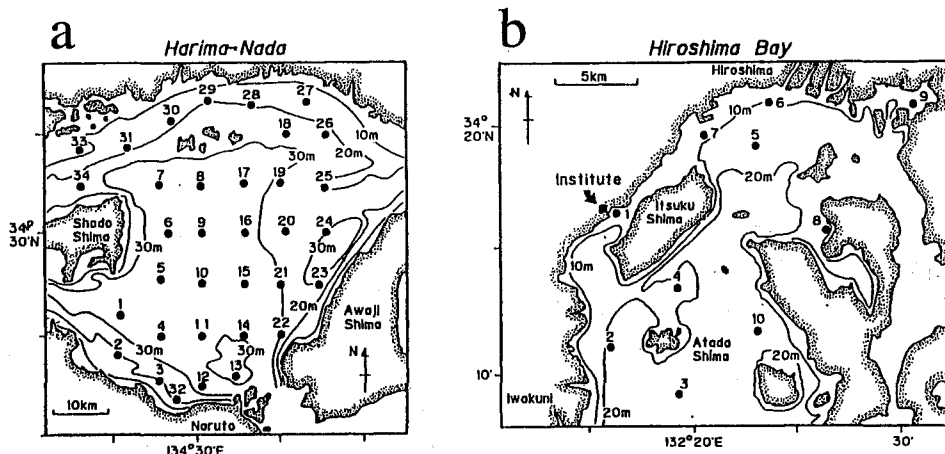


Fig. 1-2. Sampling stations in Harima-Nada (a) and Hiroshima Bay (b).

内には数個の色素体が見られる (Plate 1-3, a)。培養後 2 日目にはすでに発芽しており、栄養細胞の群体 (8 細胞) が観察された。栄養細胞は殻径が約 10  $\mu\text{m}$  で細胞内には数個の色素体があり、殻隙はせまい (Plate 1-3, b)。

(4) *Chaetoceros* sp.-B (Plate 1-4)

休眠胞子は殻径が約 20  $\mu\text{m}$  で、一方の蓋殻は中央部でやや膨出する。もう一方の蓋殻は弧を描くようにゆるやかに膨出し、表面には長さ 10  $\mu\text{m}$  程度の細毛が存在する (Plate 1-4, a)。培養 2 日目には栄養細胞の群体 (11 細胞) が観察された。細胞内には比較的大きな色素体が 1 個あり、殻隙は、ほぼ楕円形であった (Plate 1-4, b, c)。なお、培養 2 日目の時点では、発芽した細胞の片端に胞子の蓋殻が保持されていた (Plate 1-4, b)。

(5) その他の *Chaetoceros* 休眠胞子 (Plate 1-5)

今回の観察においては発芽しなかったものの、上記以外にも *Chaetoceros* の休眠胞子と思われるものが多数観察された (Plate 1-5, a-e)。このように *Chaetoceros* の休眠胞子は、種によってその形態的特徴 (上下の蓋殻の形状や表面の装飾物など) が各々異なっており、休眠胞子の形態的特徴が既知の種の場合には種を査定する際の重要な手がかりとされている (小久保 1960, Rines and Hargraves 1988)。

(6) *Thalassiosira* sp. (Plate 1-6)

休眠胞子は殻径が約 20  $\mu\text{m}$ 、殻高約 10  $\mu\text{m}$  の円盤状。2つの細胞が蓋殻面で接している。細胞内に暗化・凝集した色素体が見られる点以外は、比較的营养細胞とよく似た形態的特徴を有する (Plate 1-6, a, b)。培養後 1 日目にそれぞれの細胞が発芽を開始し、殻高が増大していた (Plate 1-6, c)。3 日目には十数個の栄養細胞が観察された (Plate 1-6, d)。

(7) *Leptocylindrus danicus* Cleve (Plate 1-7)

半球状の蓋殻に多くの棘を有する形態的特徴を持ち、栄養細胞とは形態が全く異なった休眠胞子が形成される (Plate 1-7, a, b)。本種の休眠胞子は、増大胞子の形成直後に形成されるとされている (French and Hargraves 1986)。発芽に際しては、胞子の両蓋殻が廃棄される (Plate 1-7, c, d)。

(8) *Ditylum brightwellii* (West) Grunow (Plate 1-8)

半内生の休眠胞子を形成する。胞子の蓋殻は厚く (殻径約 45  $\mu\text{m}$ )、その形態は栄養細胞とは異っている (Plate 1-8, a)。培養開始 1 日後には発芽が完了していた (Plate 1-8, e)。発芽に際しては、胞子の蓋殻を廃棄する (Plate 1-8, b~e)。

(9) *Stephanopyxis* sp. (Plate 1-9)

半内生の休眠胞子を形成する (殻径約 40  $\mu\text{m}$ )。栄養細胞よりも厚い蓋殻を持つため、両者の区別は容易である (Plate 1-9, a)。発芽の際に胞子の両蓋殻は廃棄されず、群体の両端にそれぞれの蓋殻を保持したままで細胞

の分裂が進行していく (Plate 1-9, b, c)。

(10) *Bacteriastrum hyalinum* Lauder (Plate 1-10)

*Chaetoceros* 型の休眠胞子を形成する (殻径約 20  $\mu\text{m}$ )。すなわち、表面の平滑な厚い蓋殻を持ち、栄養細胞とは形態が異なっている (Plate 1-10, a, b)。発芽の際には蓋殻を廃棄する (Plate 1-9, c)。

2. 休眠細胞 (resting cells)

ここでは、底泥試料中に観察された休眠細胞と呼ばれる休眠期細胞の形態、およびその発芽について記す。なお、*Skeletonema costatum* の休眠細胞については、特に詳しい形態観察を行った。

(1) *Asterionellopsis gracialis* (Castracane) Round (Plate 1-11)

休眠細胞は栄養細胞と酷似した形態的特徴をもつ。広極部の幅は約 8  $\mu\text{m}$  で、2 個の細胞が広極部の蓋殻で接していた (Plate 1-11, a)。栄養細胞にみられるような 2 個の小板状の色素体は観察されない。培養後 1 日目には細胞広極部の幅が約 12  $\mu\text{m}$  になり、細胞内に 2 個の色素体が見られるなど、栄養細胞へ変化 (発芽) していく様子が観察された (Plate 1-11, b)。7 日目になると、長い螺旋状の群体が見られるようになった (Plate 1-11, c)。

(2) *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve (Plate 1-12)

休眠細胞は群体中に複数個存在し (Plate 1-12, a では 3 細胞)、その形態は栄養細胞と酷似する。細胞の幅は約 10  $\mu\text{m}$ 。細胞内に凝集・暗色化した色素体が数個存在する特徴によって、栄養細胞と識別することができる (Plate 1-12, a)。連結刺 (strutted process) の部分には、海底に到達した後に付いたと判断される微細な付着物が存在していた。群体中に細胞は 4 個認められたが、そのうちの 1 個は、細胞内に色素体等が認められなかったことから、すでに死んでいるものと推定された (Plate 1-12, a: 矢印)。培養開始後 3 時間で、群体中の細胞は変化していた (Plate 1-12, b)。細胞内の凝集体が細胞全体に拡がると共に、それぞれの細胞が伸長していた。このことは、休眠細胞の発芽が非常に短時間のうちに起きることを示唆するものである。培養開始後 4.5 時間以降には、各細胞は活発に分裂し始め (Plate 1-12, c~f)、現場水域にみられる *S. costatum* の栄養細胞と同じ形態的特徴を有していたことから、休眠細胞から栄養細胞への移行が完了したものと判断された。なお、海底泥試料中から分離培養した 10 群体の休眠細胞うち、8 群体が同様に発芽し、増殖を開始した。

以上の観察結果から、*S. costatum* の休眠細胞が、なんらかの環境変動 (光強度、水温、あるいは栄養塩濃度の変化) によって速やかに発芽し増殖できること、および 11°C の暗黒条件下において少なくとも 3 ヶ月間は発芽可能な生理状態で生存できる能力を持つことが示唆された。



次に、広島湾の海底泥中から見出されたいくつかの *S. costatum* 休眠細胞を Plate 1-13 に示す。今回の観察において、*S. costatum* 休眠細胞はその形態的特徴から、Plate 1-13, a に示したタイプ (A タイプと呼ぶ) と、Plate 1-13, b, c に示したタイプ (B タイプと呼ぶ) の細胞の、2つのタイプに分けることができた。

A タイプの休眠細胞の特徴は、細胞が2個ずつ対になって存在する点であり、前出の Plate 1-12, a に示した休眠細胞と同じ特徴を持っている。これらの細胞では、対になって見える細胞間の連結刺には、細かな付着物がない。すなわち、このタイプの休眠細胞では、付着物のある連結刺 (矢印) と付着物のない連結刺が交互に存在している。連結刺における付着物の有無は、それぞれの連結刺部分の隙間等の性質の違いによると考えられる。あるいは通常の栄養細胞から休眠細胞へと変化する際に特別な細胞分裂が行われ、この時に生じた連結刺部分には隙間が生じず、付着物がつかない性質を持つかもしれない。この点については今後明らかにする必要がある。

B タイプの休眠細胞の特徴は、付着物が存在する連結刺 (矢印) の間に4個の細胞が存在するという点である (Plate 1-13, b, c)。ただし、細胞内に暗褐色の凝集体を持つ生細胞は、4個の細胞のうち内側で相対する2つの細胞のみに観察される (死細胞の場合もある)。それに対して、外側 (付着物が認められる連結刺側) の2個の細胞は常に色素体等を持たない空の細胞である。このように、*S. costatum* 休眠細胞の形態に2つの型が認められたことは、本種の休眠細胞形成過程を理解する上で重要であると考えられる。

珪藻類の休眠胞子は、親細胞の殻に対してどの位置に胞子が形成されるかによって、3種類の胞子形成過程 (endogenous: 内生的, semi-endogenous: 半内生的, exogenous: 外生的) に分けられている (例えば Syvertsen 1979)。多くの種においては、形成される休眠胞子の型は上記のいずれか1つの型に決まっている。しかし、場合によっては遺伝的要因よりも、何等かの細胞内物質の量の違いに強く支配され、同一クローン内においても複数の型の休眠胞子形成が起こることが報告されている (Garrison 1984, Syvertsen 1979)。例えば *Thalassiosira nordenskioldii* の場合、そのクローン培養中において3種類の休眠胞子の形成過程が全て観察され、3つの異なるタイプの休眠胞子が同時に存在することが観察されている (Syvertsen 1979)。なお、今回観察された *S. costatum* 休眠細胞のうち、Aタイプは Syvertsen (1979) の示した *Thalassiosira* の外生的休眠胞子に、Bタイプは同じく半内生的休眠胞子に、それぞれ形態的特徴 (細胞の配列) が類似していた。

一方で、現時点において珪藻類の休眠細胞については

複数の形成過程があるとは考えられていない (Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。つまり、休眠細胞は常に栄養細胞と同様な外形的特徴を有する細胞となり、異なるタイプの休眠細胞が形成されることは無いと考えられている (Fig. 1-1)。休眠細胞についての既往知見に従うならば、*S. costatum* の形成する休眠期細胞を“休眠細胞” (resting cell) と呼ぶことに疑問が残る。この問題に関しては、今後、休眠細胞および休眠胞子の定義をさらに明確にした上で、*S. costatum* の形成する休眠期細胞の形成過程、ならびにその形態をさらに詳細に観察して検討する必要がある。

Hasle (1973) によると、*S. costatum* の栄養細胞は2個の葉緑体を持つという。Plate 1-13, c および Plate 1-13, d は、同一の *S. costatum* 休眠細胞を、通常光下で観察した場合 (Plate 1-13, c) と青色励起光下で観察した場合 (Plate 1-13, d) について示したものである。暗褐色の凝集体を持つ休眠細胞 (生細胞) は、青色励起光下において、それぞれ2個の赤色自家蛍光を発する葉緑体を持つことが確認できた (Plate 1-13, d)。

休眠細胞が発芽する過程は、淡水産珪藻の *Melosira* (= *Aulacoseira*) 属の *M. italica* (Ehr.) Kutz. subsp. *subarctica* O. Mull について Lund (1954) が、また *M. granulata* (Ehr.) Ralfs について Sicko-Goad *et al.* (1986) が、それぞれ観察し報告している。これらの休眠細胞が発芽する過程においても、今回の *S. costatum* 休眠細胞の発芽過程と同様な細胞の変化が観察されている。例えば、*M. granulata* の休眠細胞の場合、温度 18°C、50  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の白色蛍光灯照明下、16 hL-8 hD の明暗周期で培養すると、暗褐色の凝集体を持つ休眠細胞 (condensed cell) が、凝集体がやや拡がった状態の細胞 (partially expanded cell) を経て、通常の栄養細胞と区別できない細胞 (fully expanded cell) へと変化していくという (Sicko-Goad *et al.* 1986)。しかし、発芽した休眠細胞が細胞分裂を開始するまでに要する時間は、*S. costatum* では培養開始後7~9時間であったが、*Melosira* では1日~数日 (Lund 1954, Sicko-Goad *et al.* 1986) といったように、大きな違いがある。この違いが生じる要因は不明であるが、種や培養水温が異なることと発芽に要する時間も異なるものと考えられる。

海底泥中に存在する *S. costatum* 休眠細胞が、低温や高温条件、あるいは無酸素や暗黒条件等といった、生存に不適な環境下で、どれだけの期間生存可能かということは、海域における本種の生残と分布を考察する上で極めて重要である。一般に休眠胞子や休眠細胞は、栄養細胞の増殖や生残に不適な時期を過ごすためのステージであると考えられているが (例えば French and Hargraves 1980)、これらの細胞が生存可能な条件範囲やその期間についての知見はあまり多くない。Hargraves and

French (1975) は、*S. costatum* の暗黒条件下における生残 (dark survival) について過去の報告を含めて検討した。その中で彼らは、温度が低いほど暗黒条件下における *S. costatum* の生存可能期間が長くなる傾向があることを指摘するとともに、2°C の暗黒条件下では20週間生存可能であることを明らかにした。しかしながら、これらの細胞が休眠細胞、栄養細胞のどちらであるかは不明である。今井ほか (1990) は、1986年10月に周防灘で採取した海底泥を、温度 11°C の暗黒条件下に保存して実験を行い、約3年間保存した底泥を培養液中で培養した場合に *S. costatum* の栄養細胞が出現してくることを確認した。この事実は、海底泥中の *S. costatum* 休眠細胞が、低温暗黒条件下で少なくとも約3年間は生存可能であることを示唆している。

底泥中に存在するこれらの珪藻類休眠期細胞が、強風や湧昇等の物理的要因の影響で表層に巻き上げられた場合 (Takahashi *et al.* 1977, Roman and Tenore 1978), 速やかに増殖を開始することによって、その後の bloom の“タネ”の役割を果たすことは十分に可能であると考えられる。今回の発芽実験において、保存条件と培養条件で大きく変化したと考えられる環境要因は、光、水温、および栄養の3つである。これらの諸条件のうち、光および水温と休眠期細胞の発芽の関係については、第3章3節で述べる。

本調査によって、沿岸域の海底泥中には珪藻類の休眠期細胞が実際に存在していることが明らかとなった。また今回の観察で、底泥試料中に浮遊珪藻類の栄養細胞と思われる細胞はまったく見あたらなかった。このことは、海底泥中に存在する浮遊珪藻類の細胞の大部分が、休眠期の細胞であることを示唆している。

### 第3節 瀬戸内海 の海底泥中における休眠期細胞の水平分布

浮遊珪藻類の休眠期細胞が海水中における各珪藻種の出現・消失等とどのような関係を持つか、といった生態学的観点からの研究が少ない理由のひとつとして、海底泥中に存在する休眠期細胞の定量が困難であることが挙げられる。しかし、赤潮を形成する鞭毛藻類のシスト計数などによく使われるようになった終点希釈法を用いれば、海底泥中に存在する発芽可能な珪藻類休眠期細胞の量を比較的簡単に把握できることがわかってきた (例えば、Imai *et al.* 1984)。この方法を用いて休眠期細胞の時空間的変動が把握できれば、これらの細胞の役割を解明する上で重要な情報が得られるものと期待される。

ここでは、瀬戸内海 (東部および西部) の海底泥中における珪藻類休眠期細胞の水平分布を、終点希釈法によって把握することを目的とした。

### 材料と方法

調査は、南西海区水産研究所の調査船“しらふじ丸”(138トン)によって行った。1993年9月28日~10月7日には東部瀬戸内海の72測点 (播磨灘、大阪湾、紀伊水道)、1994年10月17~28日には西部瀬戸内海の98測点 (周防灘・伊予灘・広島湾・別府湾) の合計170点で採泥を実施した (Fig. 1-3, a, b)。各調査点で KK 式柱状採泥器 (木俣ほか 1960) を用いて採泥を行い、底泥表面から 1 cm の深さまでの泥 (各測点で 4~5 本の柱状試料を採取し、合一した) を不透明なプラスチック容器に封入後、速やかに約 10°C の暗条件下に保管した。なお、KK 式柱状採泥器による採泥が不可能な調査点 (主に海峡部) では、SM 式採泥器による採泥を行い、その表層 (約 1 cm 深まで) の海底泥を採取した。採泥から約 2~3 ヶ月以内に、終点希釈法によって海底泥中の珪藻類休眠期細胞数を計数した。終点希釈法 (=Extinction dilution method あるいは Most Probable Number method) は Imai *et al.* (1984) および今井ほか (1990) に基づき、以下のような手順で行った (Fig. 1-4)。まず、採取した泥試料をよく攪拌した後、その一部 (1~2 g の湿泥) を改変 SWM-3 培地 (Chen *et al.* 1969, 伊藤・今井 1987) に  $0.1 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$  の濃度になるように懸濁させ、これを  $10^0$  希釈液とした。つづいて、この懸濁液を10倍に希釈した懸濁液を  $10^1$  希釈液、さらに10倍に希釈したものを  $10^2$  希釈液、と順次希釈していき、 $10^5$  希釈液まで作製した。 $10^2 \sim 10^5$  希釈の各段階の懸濁液について、組織培養容器 (48穴, Costar 社製) に5区画 (1区画に 1 ml ずつ) ずつ接種した。このような処理をしたものを、温度 22°C, 光強度約  $50 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 明暗周期 14 L-10 D の条件下で培養した。

培養開始から 6~8 日経過した後、出現した栄養細胞の観察を倒立型落射蛍光顕微鏡 (DIAPHOT-TMD, Nikon 社製) で行った。各希釈段階において、珪藻類の栄養細胞が出現した区画を陽性とし、出現が確認された浮遊珪藻の種あるいは分類群を記録した。各希釈段階での出現区画数 (陽性数) の組合せから、最確数表 (Thronsdon 1978, 伊藤・今井 1987) を用いて、もとの湿泥 1 g 中に存在する休眠期細胞の数 (MPN  $\text{g}^{-1}$  wet sediment) を求めた。海底泥  $1 \text{ cm}^3$  中の休眠細胞数 (MPN  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment) は、得られた最確数値に試料の見かけの比重を乗じて算出した。なお、海底泥試料 (湿泥) の  $1 \text{ cm}^3$  あたりの重さを測定し ( $\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$ ), これを泥試料の見かけの比重とした。また、目合  $63 \mu\text{m}$  の篩を用いて、各試料泥の泥分含有率 (粒径  $63 \mu\text{m}$  以下の粒子が占める割合) の測定も行った。なお今回の調査においては、*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp. の3つの分類群の珪藻類が顕著に出現したので、ここではこの3つの分類群の休眠期細胞の

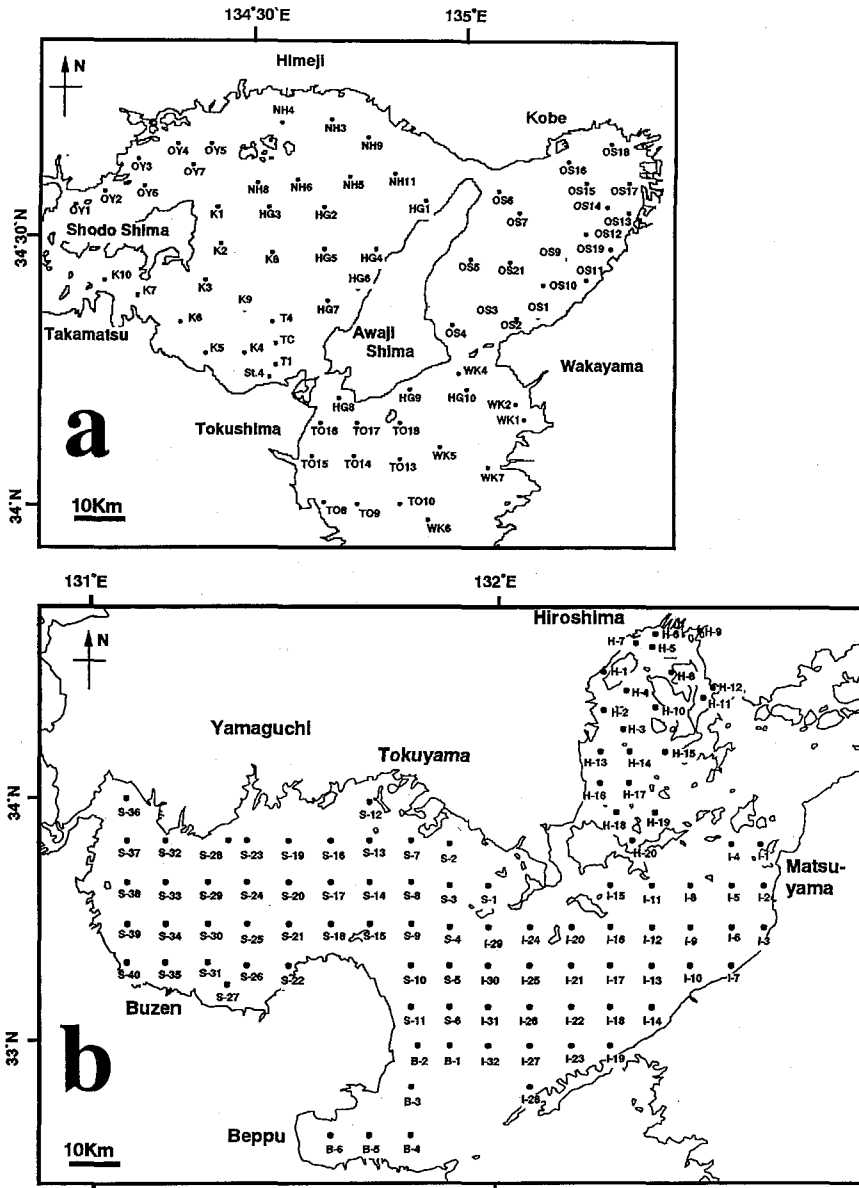


Fig. 1-3. Sampling stations in eastern (a) and western (b) part of the Seto Inland Sea.

分布について述べる。

結 果

海底泥中の珪藻類休眠期細胞の水平分布 前記のように、本調査において顕著に観察された珪藻類は *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp. および *Thalassiosira* spp. であったが、その他にも *Leptocylindrus* spp., *Asterionellopsis glacialis*, *Stephanopyxis* sp., *Odontella* sp., *Thalassionema nitzschioides* 等の珪藻類も同時に出現した。しかしその存在密度は前述の3分類群と比べると概ね 1/10 以下であり、検出されない場合も多かった。

*Skeletonema*, *Chaetoceros*, *Thalassiosira* の3分類群の発芽可能な休眠期細胞は、広い範囲において比較的高

密度で存在していた。それぞれの休眠期細胞の存在密度は以下のものであった。

*Skeletonema* : N.D. (検出限界以下)  $\sim 7.1 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$   
wet sediment

*Chaetoceros* : N.D.  $\sim 1.7 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$  wet sediment

*Thalassiosira* : N.D.  $\sim 3.1 \times 10^5 \text{ cm}^{-3}$  wet sediment

Table 1-2 にそれぞれの水域における休眠期細胞密度の最高値と最低値を示した。

これらの珪藻類休眠期細胞は、海域によって異なった分布傾向を示していた。Fig. 1-5~Fig. 1-7 に、調査海域の海底泥中における各珪藻類の休眠期細胞の水平分布を示す。*S. costatum* の休眠細胞は、大阪湾東部沿岸、播磨灘北部、紀伊水道西部、広島湾で比較的高密度であった

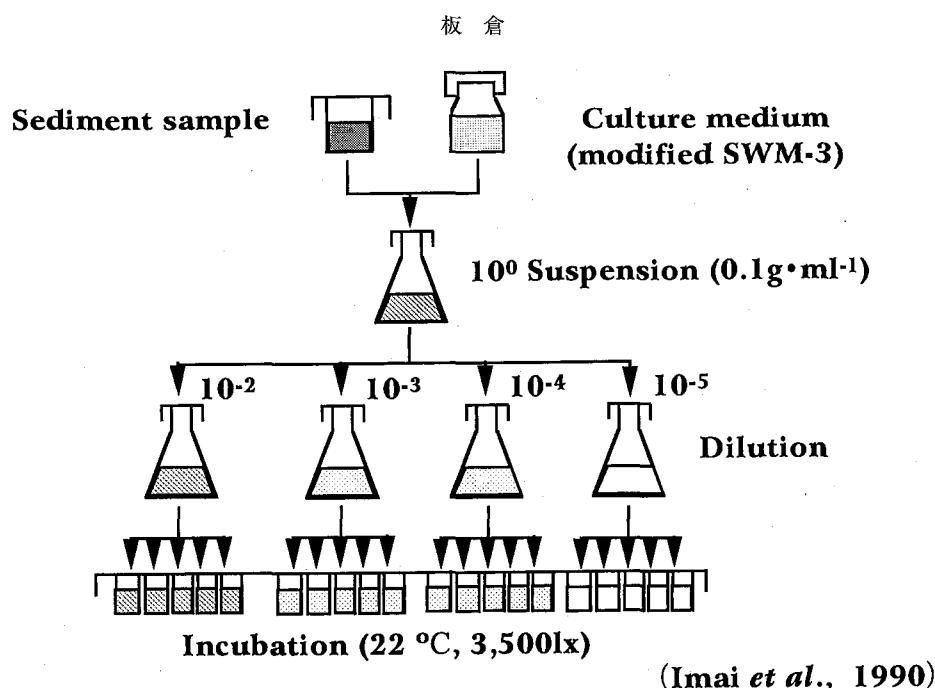


Fig. 1-4. Procedure for MPN (Most Probable Number) method

Table 1-2. Maximum and minimum densities (MPN  $\text{cm}^{-3}$  wet sediments) of diatom resting stage cells in bottom sediments of each sea area

| Sea areas     | <i>S. costatum</i>                     | <i>Chaetoceros</i> spp.                | <i>Thalassiosira</i> spp.              |
|---------------|--|--|--|
|               | min ~ max                              | min ~ max                              | min ~ max                              |
| Osaka Bay     | $6.0 \times 10^3 \sim 2.2 \times 10^5$ | $1.0 \times 10^4 \sim 1.7 \times 10^5$ | $8.4 \times 10^3 \sim 3.1 \times 10^5$ |
| Kii Channel   | $2.1 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^5$ | $6.0 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^5$ | $7.2 \times 10^2 \sim 1.7 \times 10^5$ |
| Harima Nada   | $1.3 \times 10^3 \sim 7.1 \times 10^5$ | $4.9 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^5$ | $7.1 \times 10^2 \sim 4.2 \times 10^4$ |
| Hiroshima Bay | $1.3 \times 10^4 \sim 4.2 \times 10^5$ | $9.5 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^5$ | $8.2 \times 10^2 \sim 3.0 \times 10^4$ |
| Lyo Nada      | N.D.* ~ $7.0 \times 10^3$              | N.D.* ~ $8.4 \times 10^4$              | N.D.* ~ $1.2 \times 10^5$              |
| Beppu Bay     | $3.5 \times 10^2 \sim 2.5 \times 10^4$ | N.D.* ~ $5.5 \times 10^4$              | $7.8 \times 10^2 \sim 1.5 \times 10^4$ |
| Suo Nada      | N.D.* ~ $1.2 \times 10^4$              | N.D.* ~ $1.7 \times 10^5$              | $3.7 \times 10^2 \sim 1.6 \times 10^5$ |

\*: Not detected

(Fig. 1-5)。 *Chaetoceros* spp. の休眠胞子は東部瀬戸内海の広い範囲と広島湾、別府湾、周防灘西部で高密度で存在していた (Fig. 1-6)。 *Thalassiosira* spp. の休眠胞子は大阪湾東部、紀伊水道西部、周防灘北西部において高密度であった (Fig. 1-7)。

海底泥中に優占して存在する珪藻類休眠期細胞 Fig. 1-8 に、海底泥中における休眠期細胞の優占種 (3分類群の休眠期細胞密度の合計値の50%以上を占める分類群) の水平分布を示す。この図から、底泥中に優占して存在する珪藻類休眠期細胞が、海域によって異なっていることがわかる。各分類群の休眠期細胞が優占して存在していたのは、それぞれ以下の水域であった。

*Skeletonema*: 大阪湾東部、播磨灘北部、広島湾

*Chaetoceros*: 紀伊水道、播磨灘南部、伊予灘、別府湾、周防灘南部

*Thalassiosira*: 伊予灘、周防灘北部、ならびに各海峡部 (Sts. OS4, TO16 等)

海底泥の見かけの比重の水平分布 Fig. 1-9に、海底泥試料の見かけの比重の水平分布を示した。見かけの比重は1.15~2.15の範囲にあり、平均は1.47であった。比較的大きな比重 (>1.8) が観察されたのは、東部瀬戸内海の海峡部付近と伊予灘であった。なお、泥試料の見かけの比重と泥分率 (63  $\mu\text{m}$  以下の粒子の割合, w/w) の間には負の相関が認められた ( $r=0.91$ )。

#### 考 察

本調査によって、瀬戸内海海底泥中には発芽可能な浮遊珪藻類休眠期細胞が高密度で ( $\sim 10^5 \text{ cm}^{-3}$  wet sediment) 存在していることが明らかになった。この存在密度は、これまでに明らかにされている鞭毛藻類のシ

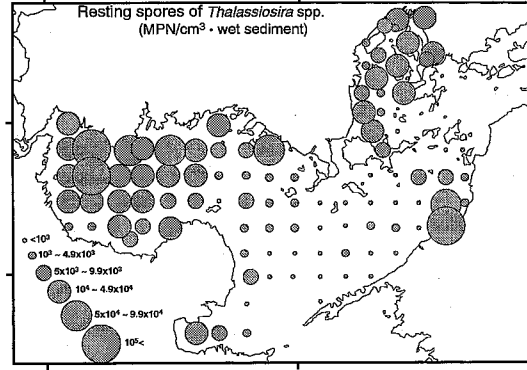
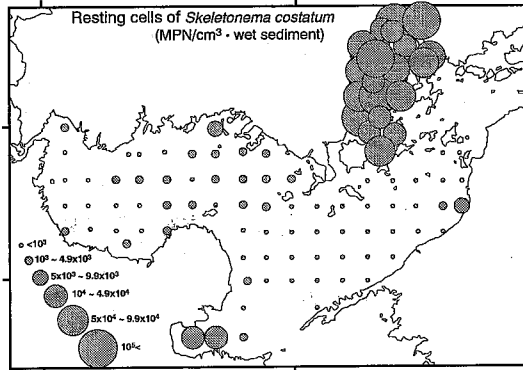
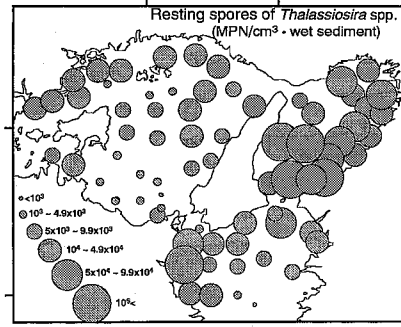
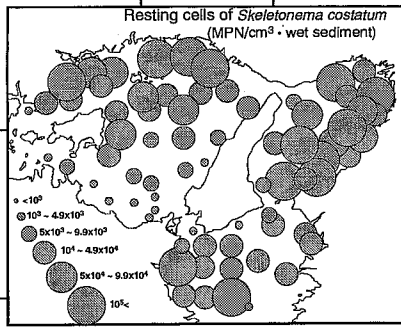


Fig. 1-5. Spatial distribution of resting stage cells of *S. costatum*

Fig. 1-7. Spatial distribution of resting stage cells of *Thalassiosira* spp.

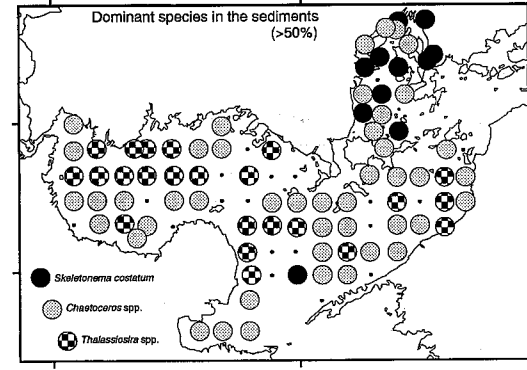
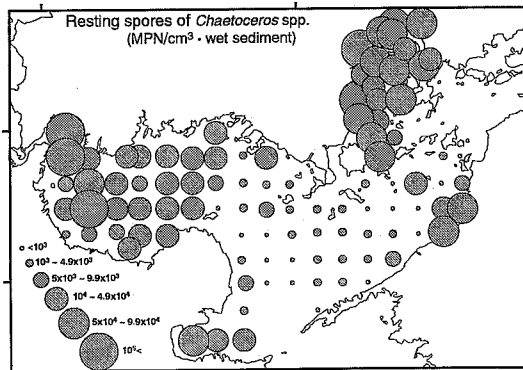
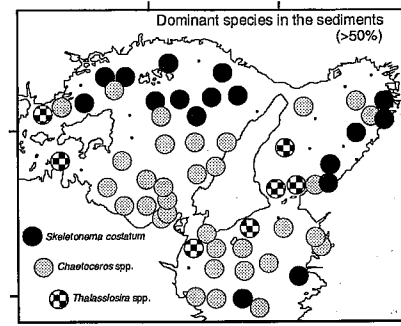
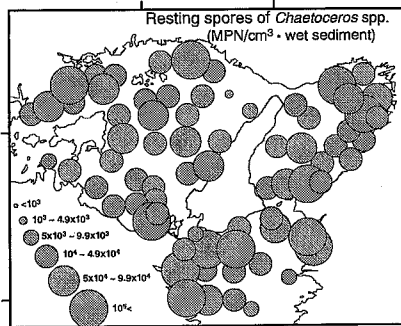


Fig. 1-6. Spatial distribution of resting stage cells of *Chaetoceros* spp.

Fig. 1-8. Dominant species of diatom resting stage cells in the bottom sediments.

ストの分布密度と比較しても、かなり高い値である。単純にその存在量だけを考慮した場合、海底泥中に存在するこれらの珪藻類休眠期細胞は、水中に出現する珪藻類

の栄養細胞のシード・ポピュレーションとして充分機能し得る密度であると判断されよう。

海底泥の比重や含泥率の分布などは、平均潮流速や循環流などの海域の物理的環境と深く関わっていると考えられる（例えば中田・平野 1989）。珪藻類の休眠期細胞も沈降粒子として海底に到達することから、当然潮流などの影響を強く受けるものと推察される。実際、海底泥中における有害鞭毛藻 *Chattonella* のシストの分布（今井 1990, 板倉ほか 1991）や、*Alexandrium* のシストの分布（White and Lewis 1982）、あるいは河川等を経由して流入する陸上植物の花粉の分布（松下 1982）などにおいては、潮流の影響を受けていることが報告されている。そこで、休眠期細胞の分布密度と海底泥の物理的性質（比重および泥分率）の相関関係を調べた（Fig. 1-10）。

その結果、休眠期細胞の分布密度と比重、休眠期細胞の分布密度と泥分率、の両者とも有意な相関関係は認められなかった。しかし、これらのデータをよく観察すると、3つの分類群の休眠期細胞の間には異なった分布の特徴があることがわかる。すなわち、*S. costatum* の休眠期細胞密度が比較的高い所 ( $>10^5$   $\text{cm}^{-3}$  wet sediment) は、比較的小さい幅の比重（約1.2~1.4）ならびに泥分率（約50~90%）の範囲に限られているのに対して、*Chaetoceros* と *Thalassiosira* はそれより広い範囲の比重および泥分率の所でも比較的高い密度が観察されている、という特徴である。このような分布傾向の違いが起こる原因

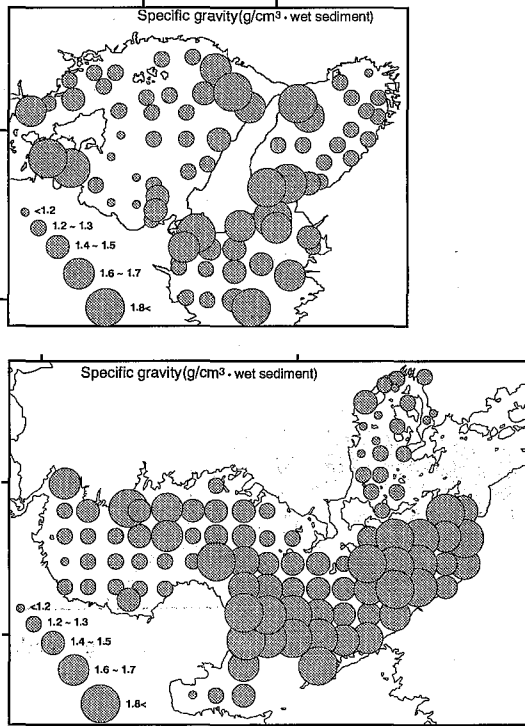


Fig. 1-9. Spatial distribution of the specific gravity of the bottom sediments.

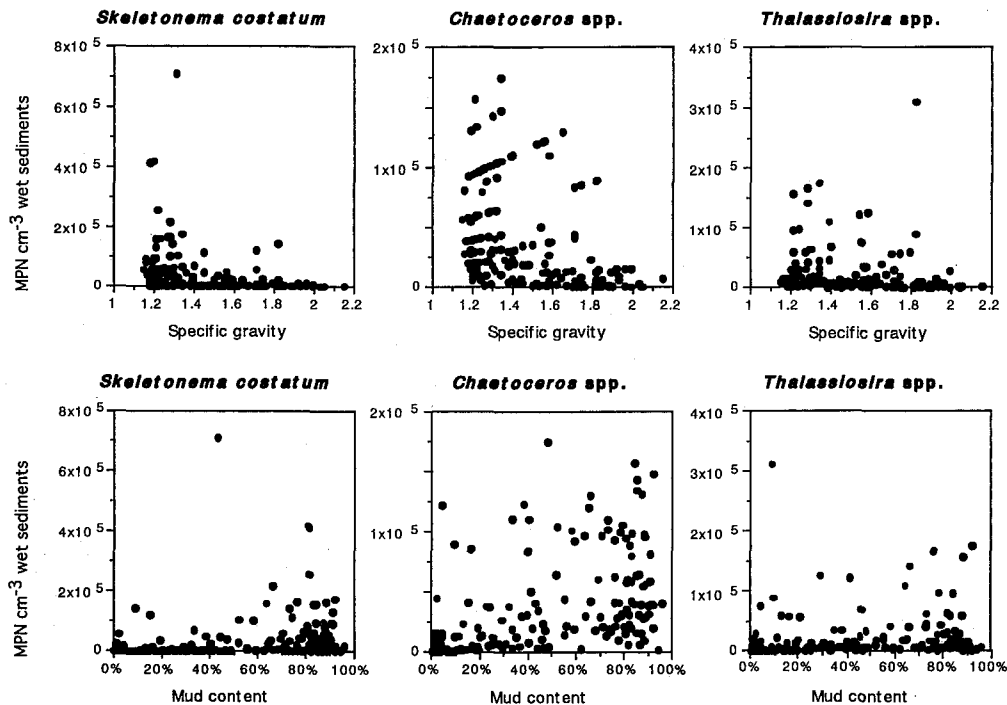


Fig. 1-10. Relationship between the abundance of resting stage cells of *S. costatum*, *Chaetoceros* spp. and *Thalassiosira* spp. and the specific gravity (top), and with the mud content (bottom).

について、本調査の結果のみから結論を下すことは出来ない。しかし、この種による分布傾向の違いは、各々の休眠期細胞の持つ物理的性質の違い（比重の違い）に影響を受けているものと推察される。例えば、*S. costatum*の形成する休眠細胞は、*Chaetoceros*や*Thalassiosira*の休眠細胞と比較すると蓋殻の珪酸質の蓄積の程度が小さく、比重も小さいと考えられる。また、*Thalassiosira*の休眠細胞は、海底泥中の泥粒子など比重の大きな他の粒子に付着している場合がしばしば観察される。このような休眠期細胞の物理的特徴は、現場水域における沈降、堆積過程に影響し、上述のように異なった分布傾向を示す原因になるものと判断できる。

もちろん、底泥中の休眠期細胞の分布には、物理的要因以外に、水中の栄養細胞からの新たな休眠期細胞の供給といった生物的な要因も大きな影響を持っていると考えられる。山田ほか（1980a）によると、*Skeletonema*は栄養塩濃度が非常に高い水域（過栄養水域）を指標する生物であり、*Chaetoceros*はそれと比較するとやや栄養塩濃度が低い水域（富栄養水域～貧栄養水域）を指標する生物であるという。そしてこのような指標生物による判定の結果から、播磨灘北部沿岸と大阪湾奥部から東部沿岸が過栄養水域であることが示されている（山田ほか 1980b, 1982）。今回の調査結果においても、播磨灘北部沿岸と大阪湾奥部から東部沿岸の海域では*Skeletonema*の休眠細胞が優占し、播磨灘南部から紀伊水道にかけての水域では*Chaetoceros*の休眠細胞が優占して存在しており、水中に優占して出現するプランクトンと一致する結果が得られている。つまり、海底泥中の休眠期細胞の量は水中の珪藻類の組成（優占種）と密接な関係を持つと判断される。このことは、海底泥中の休眠期細胞の組成を調査すれば、上述のような海域の栄養環境についての判定が可能であることを示唆するものである。近年の珪藻研究では、海底泥中に存在する珪藻類の蓋殻（化石）の種類と量を調査することで過去の環境の推定等を行うことが活発に行われているが（Van Dam 1993）、海底泥中に存在する発芽可能な珪藻類の休眠期細胞の分布密度ならびにその種組成を調べることによって、その水域で優占して出現する珪藻種が推定できるであろう。また同時に、これらの情報からそれぞれの水域の現在の環境特性（例えば栄養環境）を把握することも可能であると思われる。

以上のように水域の珪藻類の種組成が海底泥中の休眠期細胞の組成に大きく影響を与える可能性があるのと同時に、一方では、海底泥中の休眠期細胞の組成が海水中に現れる栄養細胞の種組成に影響を与える可能性も考えられる。例えば Pitcher（1990）は、南アフリカ沿岸の湧昇域（the southern Benguela upwelling system）において、底層に存在するシード・ポピュレーション

（*Chaetoceros* spp. の休眠細胞）がその後起きる珪藻類の bloom の種組成に大きく影響を与えることを指摘している。いずれにしても、これらの知見は、海底泥中の珪藻類休眠期細胞と海水中に出現する栄養細胞とが密接な関係を持つことを示している。

本調査によって明らかになったことを要約すると、瀬戸内海、大阪湾の海底泥中には比較的高密度で浮遊珪藻類の休眠期細胞が存在しており、各珪藻種の休眠期細胞はそれぞれやや異なった分布の特徴を有している、ということになる。そして、これらの休眠期細胞は発芽可能な状態にある。つまり、何らかの条件が整えば、水中に新たな栄養細胞を供給する能力を有する細胞群である。

#### 第4節 広島湾における浮遊珪藻類栄養細胞の出現と海底泥中の休眠期細胞の動態

前節に述べた調査結果から、海底泥中には珪藻類の休眠期細胞が高密度で存在することが明らかになった。しかし、これらの休眠期細胞が果たしている役割を解明するには、その季節的な変動についての情報も不可欠である。

そこで本節では、海底泥中の発芽可能な珪藻類休眠期細胞数の季節的な変動と栄養細胞出現との関係について調査するとともに、夏季に起こる珪藻類と鞭毛藻類の種交替現象と海底泥中の休眠期細胞の短期変動との関係についての調査を行った。

##### 1. 長期変動

海底泥中に存在する休眠期細胞は、その一部が発芽や死亡によって失われ、一方で、水中の栄養細胞から新たに形成された休眠期細胞が補給されながら維持されているものと予想できる。これまで、いくつかの種の鞭毛藻類が形成するシストに関しては、年間を通じたシスト現存量の変化等についての知見が得られているが（福代 1982, Imai and Itoh 1987, Ishikawa and Taniguchi 1994）、浮遊珪藻類に関してこのような知見は殆ど見当たらない。ここに述べたような情報を得るためには、比較的長期間（年単位）にわたって、休眠期細胞の現存量に関する現場調査を継続して実施する必要があると考えられる。

ここでは、広島湾の3測点において、月にはほぼ一回の割合で約3年間にわたって実施した、浮遊珪藻類栄養細胞と休眠期細胞の長期変動についての調査結果を述べる。

##### 材料と方法

現場調査 1989年11月から1992年の9月にかけて、広島湾の3測点（Stns 1, 4 および 5）で月に1回の割合で現場調査を行った（Fig. 1-11）。各測点においてKK式柱状採泥器（木俣ほか 1960）を用いて4～5本の柱状

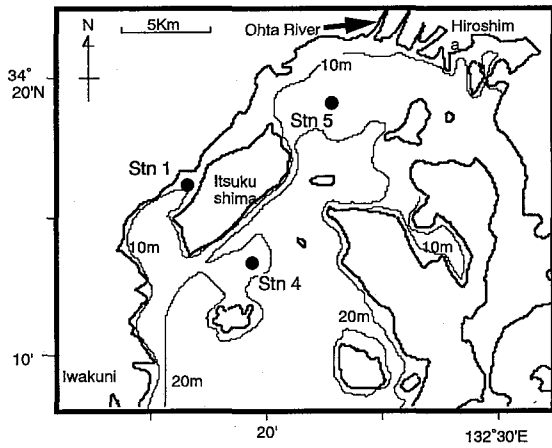


Fig. 1-11. Location of three sampling stations in Hiroshima Bay.

採泥試料を採取し、底泥表面から 1 cm 深までの泥を一つの不透明な容器に分取・合一して後述の休眠期細胞計数用の試料とした。また、ニスキン採水器 (General Oceanics INC.) を用いて各測点の表層 (0 m) ならびに海底から 1 m 上層 (B-1 m) の海水試料を採取した。海水試料中の浮遊珪藻類の栄養細胞数は、採水当日に各海水試料 (生試水 10  $\mu$ l ~ 1 ml) を光学顕微鏡で観察して求めた。海水の水温および塩分 (0 および B-1 m 層) は、現場で水温塩分計 (model 602, Yeo-Kal 社製) を用いて測定した。

海底泥中の珪藻類休眠期細胞数の計数 海底泥中 1 グラムの珪藻類休眠期細胞数は、前述の終点希釈法 (Imai *et al.* 1984, 今井ほか 1990) によって求めた。海底泥 1  $\text{cm}^3$  中の休眠細胞数は、得られた泥 1 グラム当たりの最確数値に海底泥試料の見かけの比重を乗じて算出した。なお、終点希釈法による計数作業は全て調査の当日に行った。

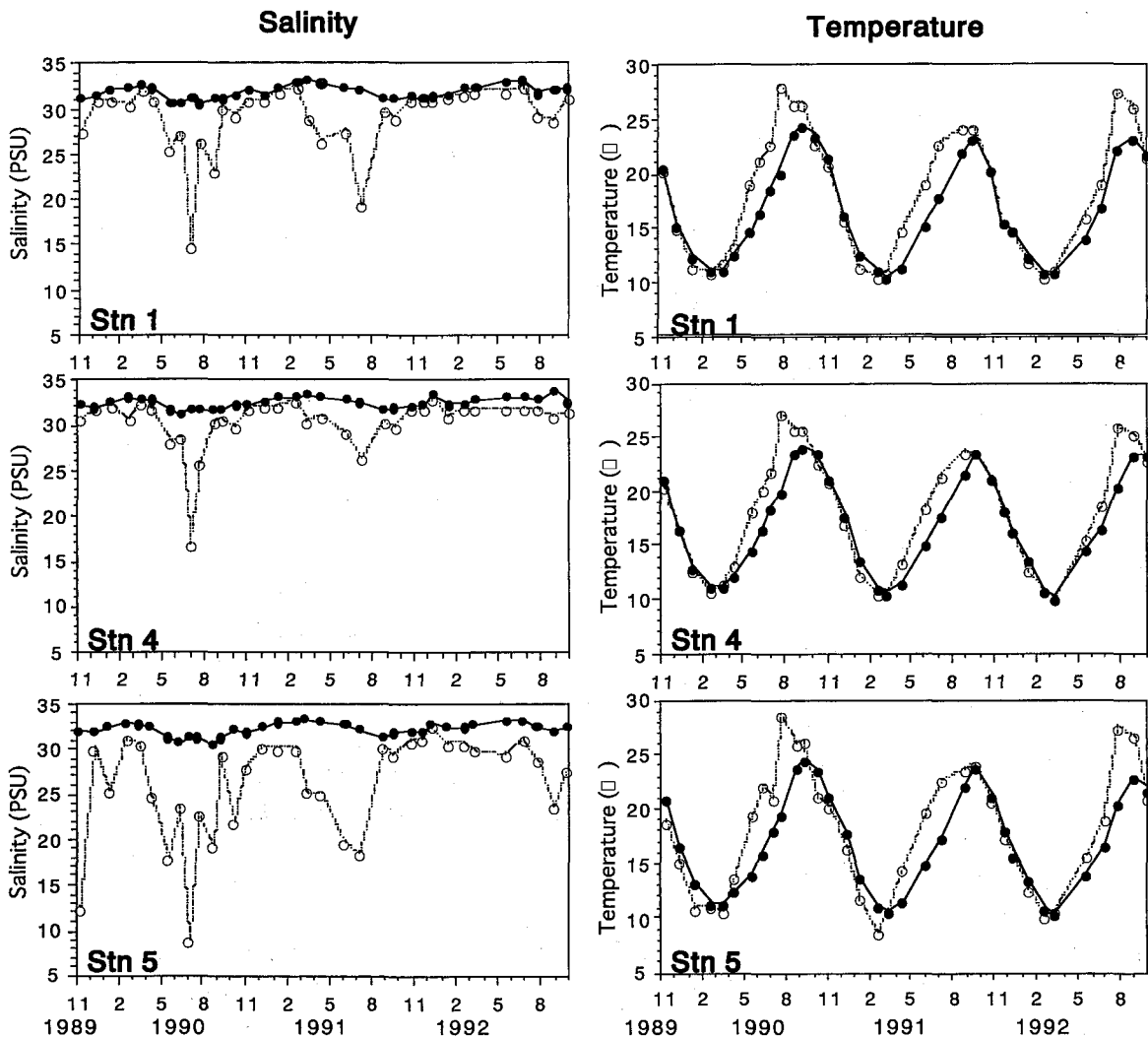


Fig. 1-12. Seasonal changes of temperature and salinity in the water column at each station (○ 0 m; ● B-1 m).



本調査に先立って予備的な観察から、広島湾の海底泥中には *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., および *Thalassiosira* spp. の3分類群の珪藻類休眠期細胞が多数存在しており、その他に *Leptocylindrus* spp., *Asterionellopsis glacialis*, *Stephanopyxis* spp., *Odontella* sp., *Thalassionema nitzschioides* 等が認められることが明らかになっていた。中でも、*Skeletonema*, *Chaetoceros* および *Thalassiosira* の栄養細胞については、広島湾でしばしば赤潮を形成することが知られている（例えば大内・高山 1981, Mukai 1987）。そこで本調査では、*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., および *Thalassiosira* spp. の3分類群の珪藻類休眠期細胞に注目し、それぞれの分布の季節的变化に関する調査を行った。

データの解析 海底泥試料中の休眠期細胞の発芽、ならびに海水中の栄養細胞の出現に有意な季節性が認められるかどうかを確かめるために、各珪藻類の休眠期細胞の密度および栄養細胞密度のデータについて“連”の検定 (=run test) (Tate and Clelland 1957) を行った。なお、連の検定を行う際には、それぞれのデータ ( $x$ : 休眠期細胞数=MPN 値, あるいは栄養細胞数=計数值) を対数值 (=  $\log_{10}(x+1)$ ) に変換して検定を行った。

## 結 果

水温・塩分の季節変化 Fig. 1-12 に3測点の表層と B-1 m 層における水温および塩分の季節変化を示した。各測点における水温の季節変動はほぼ同様な傾向であり、3月に約 10°C 前後の最低水温が観測された後に上昇し続け、8月に表層で 25~28°C の最高値を示した。その後(9月以降)水温は3月まで下降していった。表層と B-1 m 層の水温の相違から、水温成層が4月から9月にかけて発達すること、10月から3月には鉛直混合が起こっていること、が推察された。塩分は冬季(1月~2月)の32以上の最高値と夏季の10以下の最低値(1990年7月, St. 1と5の表層)の範囲で変動していた。夏季(梅雨時期)の表層において観測された低い塩分は、広島湾に注ぐ太田川からの淡水の流入の影響を強く受けた結果であろう。

休眠期細胞密度の季節変化 Fig. 1-13 に、3測点の海底泥試料中における発芽可能な各珪藻類の休眠期細胞数の経時変化を示す。なお、連の検定の結果、これらの発芽可能な休眠期細胞数の変化には有意な季節性は認められなかった ( $P>0.05$ )。

*Skeletonema costatum* の休眠期細胞は、St. 1では  $6.8 \times 10^3 \sim 1.6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均  $= 3.0 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 4では  $2.3 \times 10^4 \sim 1.6 \times 10^6 \text{ g}^{-1}$  wet

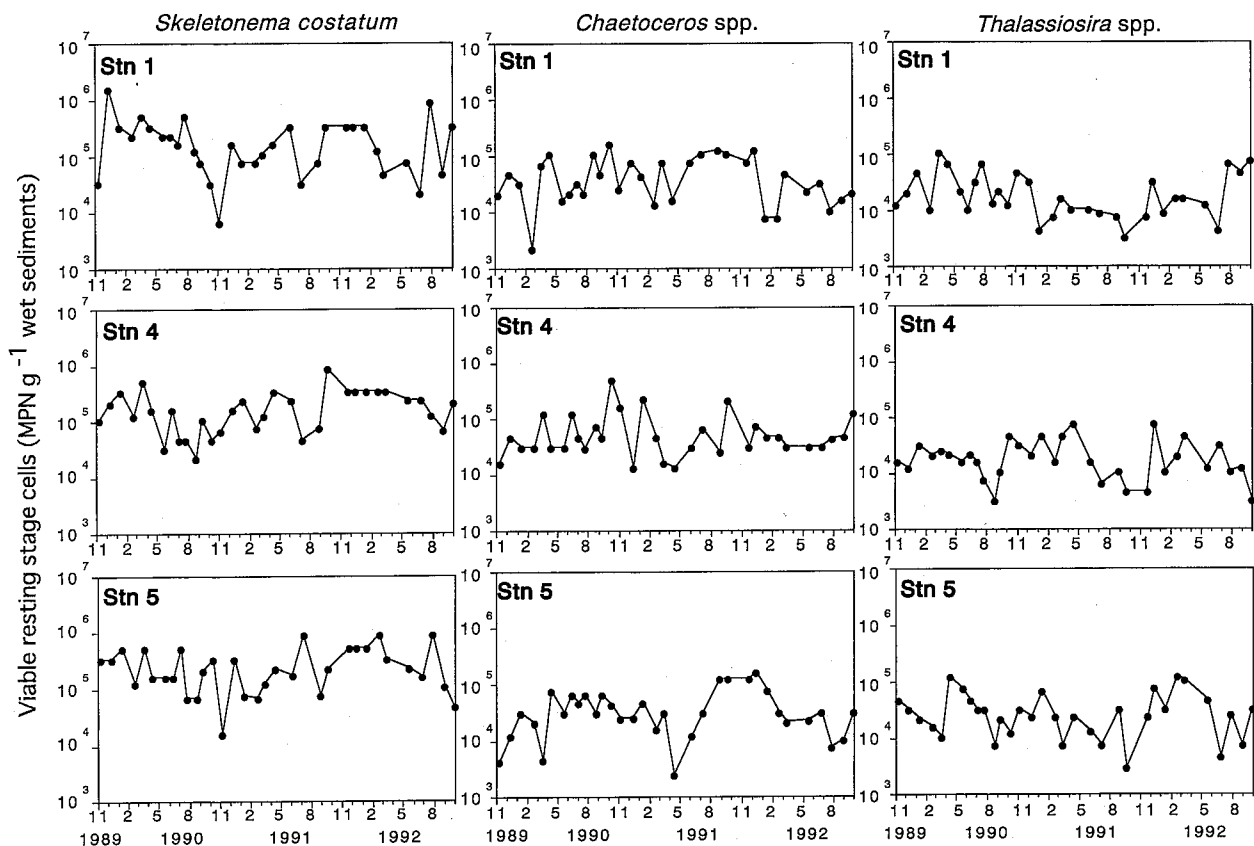


Fig. 1-13. Temporal change of the numbers of viable diatom resting stage cells in the sediment samples collected at each station.

sediment (平均 $=2.5 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 5 では  $1.7 \times 10^4 \sim 9.2 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=3.3 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment) の範囲にあった。

*Chaetoceros* の休眠期細胞は, St. 1 では  $2.3 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=5.2 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 4 では  $1.4 \times 10^4 \sim 5.4 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=7.8 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 5 では  $2.6 \times 10^3 \sim 1.7 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=4.9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment) の範囲にあった。

*Thalassiosira* の休眠期細胞は, St. 1 では  $3.3 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=2.7 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 4 では  $3.3 \times 10^3 \sim 7.9 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=2.5 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment), St. 5 では  $3.1 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^5 \text{ g}^{-1}$  wet sediment (平均 $=3.7 \times 10^4 \text{ g}^{-1}$  wet sediment) の範囲にあった。

水中における栄養細胞出現密度の季節変化 Fig. 1-14 に, 3測点の海水中(表層と B-1 m 層)における珪藻類の栄養細胞出現密度の変化を示す。それぞれの栄養細胞密度は著しく増減し, 時には全く観察されないこともあった。これら栄養細胞の出現密度の経時的変化も, 連年の検定の結果から季節性が無いと判定された ( $P > 0.05$ )

*Skeletonema costatum* の栄養細胞は, St. 1 では N.D. (検出限界以下)  $\sim 1.3 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 4 では N.D.  $\sim 1.1 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 5 では N.D.  $\sim 8.6 \times 10^3$

$\text{cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  の範囲で出現した。

*Chaetoceros* の栄養細胞は, St. 1 では N.D.  $\sim 1.2 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 4 では N.D.  $\sim 1.2 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 5 では N.D.  $\sim 2.1 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  の範囲で出現した。

*Thalassiosira* の栄養細胞は, St. 1 では N.D.  $\sim 1.8 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 4 では N.D.  $\sim 2.4 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ , St. 5 では N.D.  $\sim 4.6 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  の範囲で出現した。

*S. costatum* と *Chaetoceros* の栄養細胞は, 4月から9月の間に何度か  $10^4 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  以上の密度で出現していたが, *Thalassiosira* は常に比較的低い密度 ( $< 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ ) でしか観察されなかった。

#### 考 察

本調査の結果から, 広島湾の海底泥中には, 常に発芽可能な浮遊珪藻類の休眠期細胞が比較的高密度で存在していることが明らかになった。これらの発芽可能な休眠期細胞は, 広島湾の海水中に出現する原地性の (autochthonous) 珪藻類のシード・ポピュレーションとして機能できると考えられる。陸上植物の研究においては, 長期間にわたって土壤中に存在しているタネの集まりを, “seed bank” あるいは “dormant seed pool” (Harper 1977) と呼んでいる。今回明らかになった沿岸

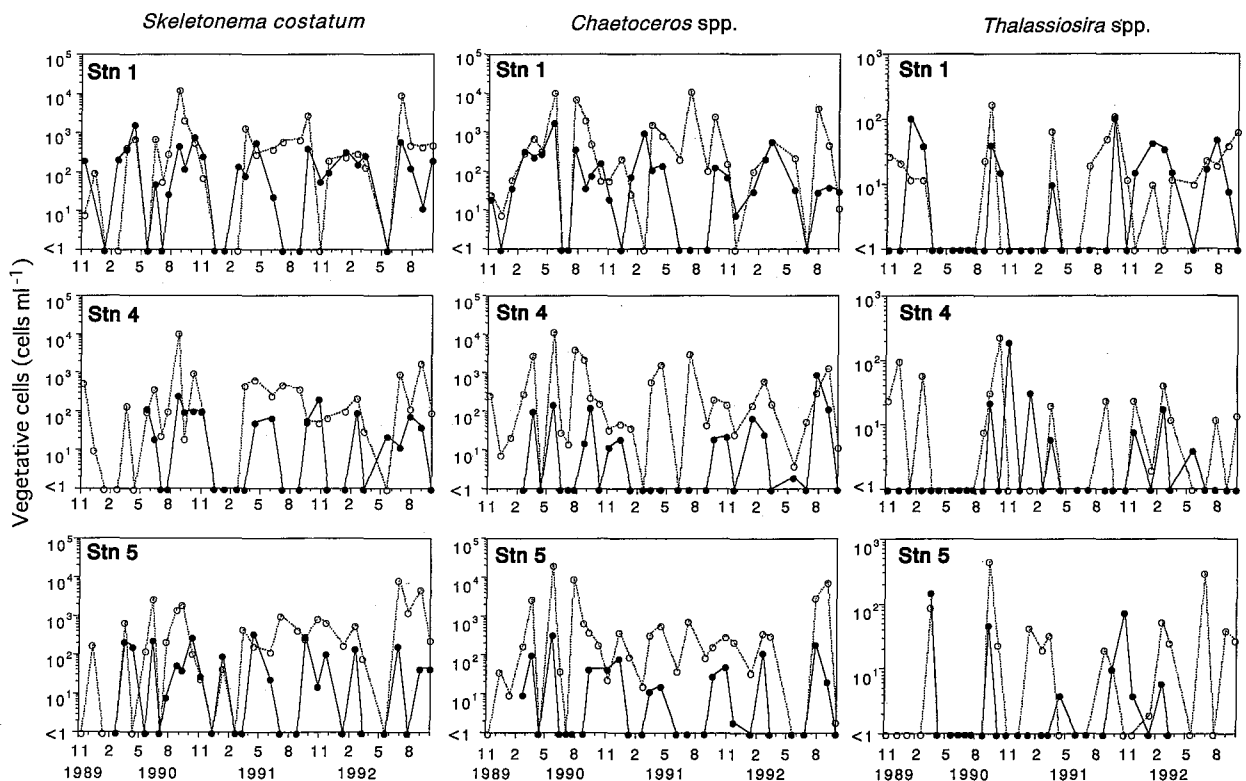


Fig. 1-14. Seasonal change of the numbers of diatom vegetative cells in the water column at each station (○ 0 m; ● B-1 m).

域海底泥中に存在する珪藻類休眠期細胞についても、同様に“seed bank”としてとらえることができるであろう。

これまで日本沿岸域においては、海底泥中に存在する鞭毛藻類（特に有害種）のシストに関する研究が活発に行われおり、シストが果たす生理・生態学的特徴について数多くの知見が集積されている（例えば、福代 1982, Imai and Itoh 1987, Ishikawa and Taniguchi 1994）。珪藻類の休眠期細胞の生態を理解するためには、鞭毛藻類のシストの有する特徴（存在密度、休眠・発芽生理等）と珪藻類休眠期細胞の特徴とを比較することが重要であろう。そこで、以下にそれぞれの特徴について比較を行った。

底泥中における存在量に関しては、鞭毛藻類のシストと珪藻類の休眠期細胞の間には大きな違いがある。例えば広島湾において、有害鞭毛藻類である *Chattonella* spp., *Heterosigma akashiwo* および *Alexandrium* spp. のシストの存在密度 (Imai and Itakura 1991, 今井ほか 1993, 山口ほか 1995) は今回得られた珪藻類休眠期細胞密度よりもはるかに低い (Table 1-3)。この表から、広島湾における底泥中の珪藻類休眠期細胞の密度は、鞭毛藻類のシストの密度よりも  $10^1 \sim 10^4$  ほど高いことがわかる。この事実は、これらの珪藻類と鞭毛藻類が、それぞれ異なった種子戦略 (seeding strategies) を有している事を示唆するものであろう。

**Table 1-3.** Abundance of resting stage cells of flagellates (upper column) and diatoms (lower column) in bottom sediments of Hiroshima Bay

| Species                                    | Abundance<br>( $\text{cm}^{-3} \cdot \text{wet sediment}$ ) |
|--|---|
| <b>Raphidophyceae</b>                      |   |
| <i>Heterosigma akashiwo</i> * <sup>1</sup> | $5.6 \times 10^1 \sim 2.9 \times 10^4$                      |
| <i>Chattonella</i> spp.* <sup>2</sup>      | $0 \sim 7.7 \times 10^2$                                    |
| <b>Dinophyceae</b>                         |   |
| <i>Alexandrium</i> spp.* <sup>3</sup>      | $5.0 \times 10^1 \sim 1.3 \times 10^3$                      |
| <b>Bacillariophyceae</b>                   |   |
| <i>S. costatum</i>                         | $8.0 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6$                      |
| <i>Chaetoceros</i> spp.                    | $2.7 \times 10^3 \sim 6.6 \times 10^5$                      |
| <i>Thalassiosira</i> spp.                  | $3.7 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^5$                      |

Note: Data of flagellates cysts were compiled from Imai and Itakura (1991),\*<sup>1</sup> Imai et al. (1993),\*<sup>2</sup> Yamaguchi et al. (1995)\*<sup>3</sup>  
Abundance of diatom resting stage cells ( $\text{cm}^{-3} \cdot \text{wet sediment}$ ) were calculated from the present data

今回の調査では、浮遊珪藻類の栄養細胞の出現ならびに発芽可能な休眠期細胞の存在密度のいずれにおいても明瞭な季節性は観察されなかった。この結果は、これまで明らかにされているいくつかの鞭毛藻類のシストの場

合とは異なったものである。例えば、*Chattonella* spp. や *Alexandrium tamarense* においては、シストの発芽には明瞭な季節性が観察されている (Wall and Dale 1968, Anderson and Morel 1979, Anderson and Keafer 1987, Yentsch et al. 1980, 福代ほか 1982, 遠藤・長田 1984, Imai and Itoh 1987)。このような発芽の季節性は、シストの持つ比較的長期間 (数カ月) の内因性休眠 (dormancy) によって生ずるものである (Anderson and Keafer 1987, Imai and Itoh 1987)。新たに形成されたシストは、この内因性休眠期間を経過しなければ、発芽に好適な条件下に置かれても発芽することができない。一方で、珪藻類休眠期細胞においては、このような内因性休眠期間は殆ど無いか、あるいはあっても数日間程度の短期間であると考えられている (Hargraves and French 1983)。つまり、大部分の珪藻類休眠期細胞が示す休眠は、水温、光等の外的要因によって起きる外因性休眠 (quiescence) であり、環境条件が好転すれば (発芽に適した環境が整えば) 速やかに発芽が起こるものと理解される。

以上のような休眠に関する特徴の違いは、それぞれの栄養細胞の出現の季節性の違いに大きな影響を与えていると推察される。すなわち、広島湾においては、*Chattonella* spp. や *A. tamarense* の栄養細胞の出現はそれぞれ夏季と春季に限られている。これは、各々のシストが内因性の休眠期間を終え、さらにそれぞれのシストの発芽に適した条件 (主として水温) が整うのが、晩春～初夏 (*Chattonella* spp.) および晩冬～初春 (*A. tamarense*) であるためと考えられる。一方で、珪藻類はどの季節にも出現が観察されている。これは、珪藻類の休眠期細胞が外因性の休眠期にあって、季節に関わらず何らかの条件 (おそらく光) が整えば発芽できるためであろう。

本研究によって以下のことが明らかになった。(1)珪藻類の休眠期細胞は広島湾の海底泥中に高密度で ( $10^3 \sim 10^6 \text{ g}^{-1} \text{ wet sediment}$ ) 常に存在する。(2)発芽可能な休眠期細胞数の変化に季節性は認められない。

海底泥中に存在するこのような浮遊珪藻類の seed bank は、環境変動の著しい沿岸域において浮遊珪藻類が生残し続けるための重要な役割を果たしていると考えられる。そして、これらの休眠期細胞は、突発的な環境の好転に対応して発芽することによって、海水中に出現する新たな栄養細胞個体群のタネとして機能しているものと推察される。

## 2. 短期変動

沿岸域における植物プランクトンの消長のなかで、春と秋にみられる出現のピークについては、比較的長期にわたる季節的な気象の変化が主な原因となって起こると説明されている (例えば Sournia 1969)。一方で、夏に表層で起こる短期的な植物プランクトンのブルームは、

潮汐や風、河川からの流入等の、突発的な物理的環境の変化によって、中・底層の栄養塩の豊富な水が表層にもたらされることに起因するものと判断される (Takahashi *et al.* 1977)。

広島湾においても、夏季に何回かの植物プランクトンのブルームが認められる。特に、毎年5~7月の間には、珪藻類 (*Skeletonema costatum*) と鞭毛藻類 (*Heterosigma akashiwo*) の間での種交替現象がしばしば観察される。これらの種交替現象には、上述のような突発的な物理的環境 (水温・塩分・栄養塩濃度) の変化の他にも、捕食動物や殺藻微生物 (細菌やウイルス)、アレロパシー (Pratt 1966, Raymont 1980, Reynolds 1984, Honjo 1992, Imai *et al.* 1993a, Nagasaki *et al.* 1994, Cottrell and Suttle 1995) 等の、生物的環境の変化も関与するものと推察される。さらに、これらの外的な環境変化の他に、休眠期を持つ種の場合には、休眠期の細胞の生理・生態的特徴 (分布域、現存量、発芽条件等) といった、生物自身の内的な要因についても目を向ける必要がある。しかしながら、これまでこのような種交替現象を詳細に調査した例は非常に少なく、また、休眠期細胞と種交替現象との関係についての情報は皆無である。

ここでは、広島湾における夏季の植物プランクトン種交替現象を、環境要因や底泥中の休眠期細胞を含めて把握することを目的として研究を行った。

#### 材料と方法

1992年5月19日~7月27日にかけて、広島湾の St. 1 (Fig. 1-15; 水深約 10 m) で週 1 回程度の連続調査を行った。調査項目は、水温、塩分、透明度および水中光量子の測定と採水 (0, 5 m, B-1 m)、採泥 (底泥表面から 1 cm 深まで) である。水温・塩分の測定には TSC-81 型水温塩分計 (PARTECH 社) を、水中光量子

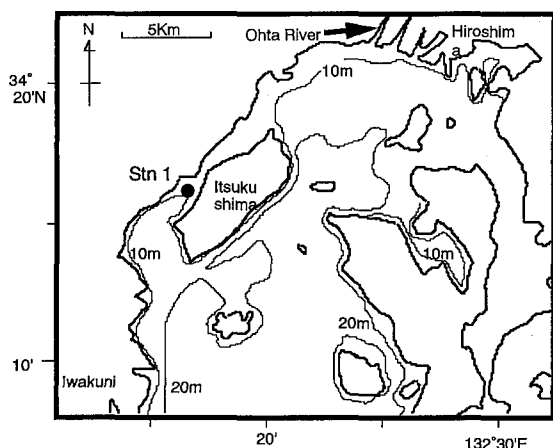


Fig. 1-15. Sampling station in Hiroshima Bay.

の測定には Biospherical Instruments 社の QSP-170 (光量子計本体) および QSP-200 (水中センサ) を、採泥には KK 式柱状採泥器 (木俣ら 1960) を、それぞれ用いた。採水サンプルは、植物プランクトンの計数、ならびに栄養塩濃度 ( $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NO}_2^-$ -N,  $\text{NH}_4^+$ -N,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P,  $\text{SiO}_2$ -Si) の測定に供した。植物プランクトン出現密度は、試水 (1 ml あるいはそれ以下) を採水当日中に顕微鏡で観察・計数して算出した。栄養塩濃度は、TrAAcs 800 型栄養塩自動分析装置 (Bran+Luebbe 社) を用いて、Strickland and Parsons (1972) の方法に準じて測定した。また、海底泥試料 (底泥表面から 1cm 深まで) については、組織培養用容器を用いた終点希釈法 (Imai *et al.* 1984, 今井ほか 1990) により、*Skeletonema costatum* および *Heterosigma akashiwo* の発芽可能な休眠期細胞数 (休眠細胞ならびにシスト;  $\text{MPN g}^{-1}$  wet sediment) の計数を行った。

#### 結果および考察

調査期間中の植物プランクトン (珪藻類と鞭毛藻類) 出現種の変化、水温・塩分の変化、栄養塩の変化、ならびに底泥中の休眠期細胞数の変化、のそれぞれの特徴について以下に記す。

植物プランクトン 珪藻類は、最高  $1.03 \times 10^4$  cells  $\cdot$   $\text{ml}^{-1}$  (6/26, 0 m) の密度で検出され、6/19~7/27 にかけて特に高密度で観察された (Fig. 1-16)。なかでも顕著に出現した種は *S. costatum* で、6/19~7/27 に最高  $9.96 \times 10^3$  cells  $\cdot$   $\text{ml}^{-1}$  (6/26, 0 m) の密度で出現していた (Fig. 1-17)。一方、鞭毛藻類は、最高  $5.70 \times 10^3$  cells  $\cdot$   $\text{ml}^{-1}$  (6/11, 0 m) の密度で検出され、5/28~6/19 (表層中心) と 7/27 (底層中心) に比較的高密度で観察された (Fig. 1-18)。なかでも *H. akashiwo* は、6/3~6/19 に、表層を中心に最高  $5.66 \times 10^3$  cells  $\cdot$   $\text{ml}^{-1}$  (6/11, 0 m) の密度で出現していた (Fig. 1-19)。なお、7/27 の底層に多く出現していたのは (約  $2.00 \times 10^2$  cells  $\cdot$   $\text{ml}^{-1}$ )、*Gymnodinium mikimotoi* であった。なお、広島湾ではこのように毎年 6 月前後に

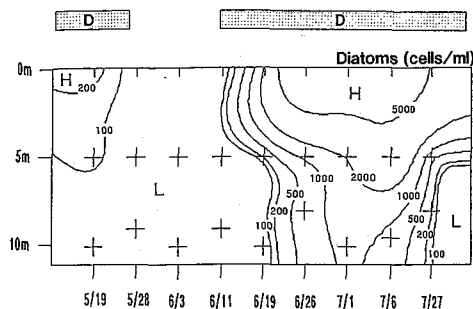


Fig. 1-16. Temporal change of the numbers of diatoms in the water column at Station 1 in 1992.

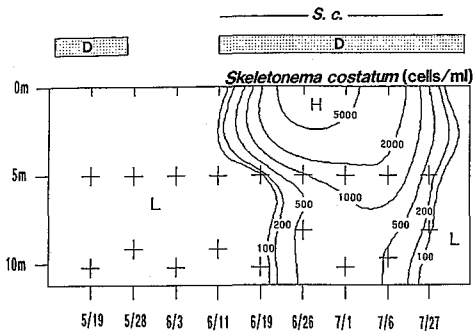


Fig. 1-17. Temporal change of the numbers of *S. costatum* in the water column at Station1 in 1992.

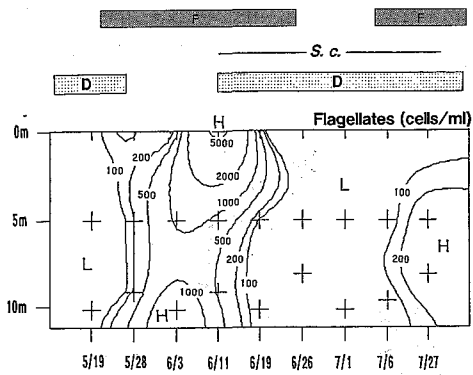


Fig. 1-18. Temporal change of the numbers of flagellates in the water column at Station1 in 1992.

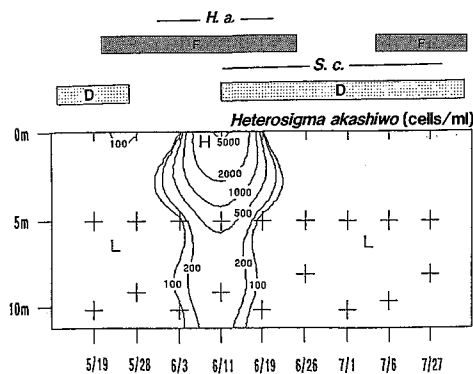


Fig. 1-19. Temporal change of the numbers of *Heterosigma akashiwo* in the water column at Station1 in 1992.

*H. akashiwo* による赤潮が発生し、その前後に珪藻類のブルームが起こることが多く観察される。

水温・塩分 水温は 14.2~27.7°C の範囲にあり、6/3 から 6/26 にかけて水温成層が認められた (Fig. 1-20)。7/1 に成層は崩れたが、7/27 には再び水温成層が形成されていた。塩分は、28.5~32.6 の範囲にあり、5/28 から 6/11 にかけてと 7/1 に、表層でやや低塩分化していた (Fig. 1-21)。また 7/27 には、表層に 29 以下の低塩分水が存在し、成層が形成されていた。しかし、平年

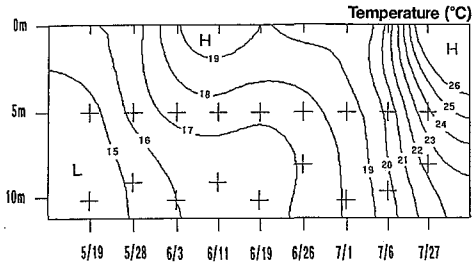


Fig. 1-20. Temporal change of temperature in the water column at the station.

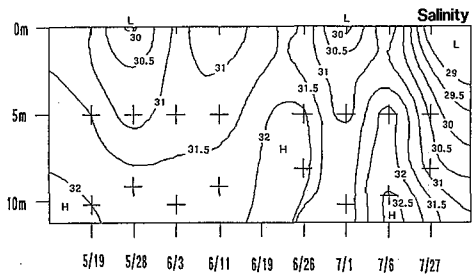


Fig. 1-21. Temporal change of salinity in the water column at the station.

と比べると 6~7 月の降雨量が少なかったせい (6 月の降雨量; 平年: 272 mm, '92年: 125 mm, 7 月の降雨量; 平年: 245 mm, '92年: 161 mm., 広島地方気象台, 1992 a, b), 低塩分化はそれほど顕著ではなかった。

栄養塩濃度 溶存態無機窒素 (DIN:  $\text{NO}_3^-$ -N,  $\text{NO}_2^-$ -N,  $\text{NH}_4^+$ -N の合計) は、0.57~6.72  $\mu\text{M}$  の範囲にあった。5/19~6/11 の間は全層で比較的低い値で推移し、特に 6/3 には 1  $\mu\text{M}$  以下 (表層および底層) であった。6/19 に底層を中心に高い値 (6  $\mu\text{M}$ ) が認められたが、表層では低く (2  $\mu\text{M}$  以下), その後全体的に減少していった (Fig. 1-22)。リン酸態リン ( $\text{PO}_4^{3-}$ -P) は、0.05~0.48  $\mu\text{M}$  の範囲にあり、DIN の場合とほぼ同様

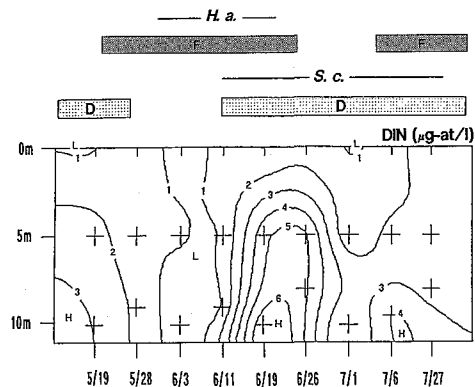


Fig. 1-22. Temporal change of DIN concentration in the water column at Station1.

な変化を示した (Fig. 1-23)。ケイ酸態ケイ素 ( $\text{SiO}_2\text{-Si}$ ) は、 $13.1\sim 39.1\ \mu\text{M}$  の範囲にあった (Fig. 2-24)。Parsons *et al.* (1978) によれば、ケイ素が珪藻類増殖の制限要因となる濃度は、約  $3\ \mu\text{M}$  前後であるという。このことから、調査期間中のケイ素濃度は、珪藻類増殖の制限要因とはならない程度の範囲にあったと判断された。5/19 には、全層で比較的低い値 (約  $15\ \mu\text{M}$  以下) であったが、その後、6/11~7/1 にかけて全層で  $25\ \mu\text{M}$  以上となり、7/6 以降は表層でやや低い値 ( $25\ \mu\text{M}$  以下) が認められた。

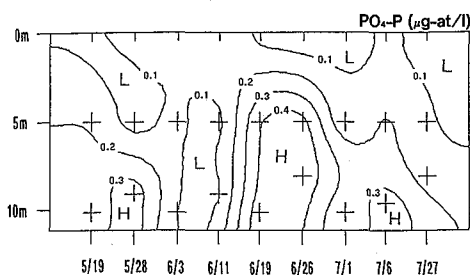


Fig. 1-23. Temporal change of  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  concentration in the water column at Station 1.

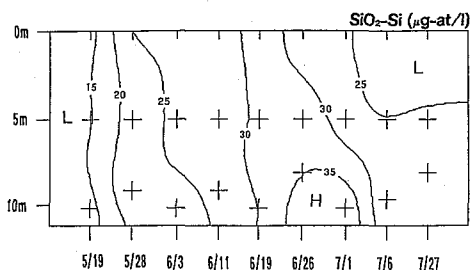


Fig. 1-24. Temporal change of  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  concentration in the water column at Station 1.

底泥中の休眠期細胞密度 終点希釈法によって計数された海底泥中の *S. costatum* の休眠期細胞は、 $2.2\times 10^4\sim 9.2\times 10^5\ \text{g}^{-1}$  wet sediment の範囲で変動していた (Fig. 1-25)。5/19 から 6/3 の間に増加 ( $7.9\times 10^4\rightarrow 9.2\times 10^5\ \text{g}^{-1}$  wet sediment) したが、6/26 にかけていったん減少 ( $2.2\times 10^4\ \text{g}^{-1}$  wet sediment) し、7/27 には再び増加 ( $9.2\times 10^5\ \text{g}^{-1}$  wet sediment) していた。この変化は、水中の *S. costatum* 栄養細胞密度の増減と比較して、おおむね逆のパターンを示していた。一方、底泥中の発芽可能な *H. akashiwo* のシストは、 $2.3\times 10^3\sim 1.3\times 10^4\ \text{g}^{-1}$  wet sediment の範囲で変動していた (Fig. 1-26)。*S. costatum* の場合と比較すると変動の幅は小さく、水中の栄養細胞数の変化との関係は顕著ではなかった。

以上のように、夏季の広島湾において珪藻類と鞭毛藻類の間で顕著な種交替現象が起きていることが本調査によって確認された。ここではまず、種交替現象と環境要

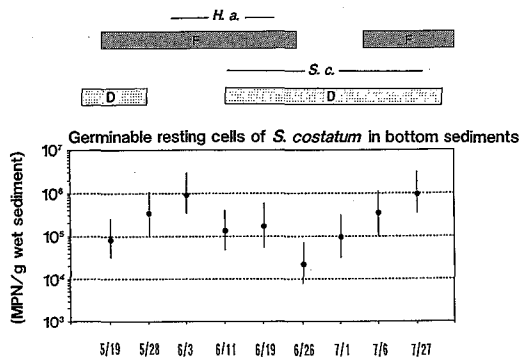


Fig. 1-25. Temporal change of the numbers of *S. costatum* resting cells in the bottom sediment at Station 1.

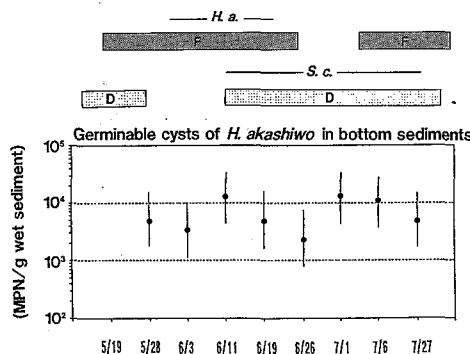


Fig. 1-26. Temporal change of the numbers of *H. akashiwo* cysts in the bottom sediment at Station 1.

因の関係のうち、水温・塩分について考えてみる。山口 (1994) は、広島湾から分離した珪藻類 (*S. costatum*, *C. didymus* 等) を用い、さまざまな水温・塩分の組み合わせが、これら珪藻類の増殖速度に与える影響について、室内培養条件下で調べた。その結果、珪藻類は比較的広い範囲の水温・塩分の条件下で増殖が可能であるが、 $20\ ^\circ\text{C}$  以上の高水温かつ  $25$  以下の低塩分の条件下では、増殖速度が著しく低下、もしくはまったく増殖できないことを明らかにした。夏季 (6~8 月) に降雨の影響で塩分低下が起きた時に珪藻類が減少し、しばしば鞭毛藻による赤潮が発生することは、このような珪藻類の生理的特徴が深く関与するものと思われる。しかしながら、前述のように、今回の調査時にはあまり顕著な低塩分化は起こっていない。比較的水温が高かった 7/6 以降にも、表層に多くの珪藻類 ( $2.0\times 10^3\ \text{cells}\cdot\text{ml}^{-1}$  以上) が出現していたのは、降雨が少なく、低塩分化があまり進行しなかったことも関係しているのかもしれない。

栄養塩のうち、窒素とリンは同様な変化を示した。すなわち、どちらも珪藻類が卓越している時期には表層で低い値、底層ではやや高い値、鞭毛藻類が卓越している時期には全層で低い値になっていた。これは、出現した鞭毛藻類と珪藻類の移動性の有無によるものであろう。

また、珪藻類のいくつかの種においては、窒素の濃度が約  $1 \mu\text{M}$  以下になると休眠期細胞を形成してしまうことが知られている (例えば Garrison 1981)。休眠期細胞は栄養細胞よりも比重が大きく、形成後はすみやかに沈降すると判断される (Odate and Maita 1990) ので、いったん休眠期細胞が形成されはじめると、その種はまもなく水中から姿を消すものと考えられる。実際に、珪藻類が卓越していた 5/19 と 7/1 の表層 (0 m) において、DIN がいずれも約  $1 \mu\text{M}$  以下の値を示し、その後海水中の珪藻類が減少していた。栄養塩のうち、特に窒素濃度の変動は、珪藻類の消失に大きく関与すると考えることができる。

底泥中の発芽可能な休眠期細胞は、水中にそれぞれの種の栄養細胞を添加するためのタネとなる可能性を持っている。その際に重要なのは、発芽のための条件と発芽可能な休眠期細胞の量であろう。今回の調査からも明らかのように、海底泥中には概ね  $10^3 \text{g}^{-1}$  wet sediment 以上の密度で、発芽可能な休眠期細胞が存在していた。つまり、条件さえ整えば、水中に栄養細胞を添加するのに十分な量の休眠期細胞が常に存在していると判断できる。ただし発芽条件については、珪藻類と鞭毛藻類 (特に *H. akashiwo*) の間で異なっていることが明らかにされている (Imai et al. 1996)。つまり、珪藻類の休眠期細胞の発芽は光 (数  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以上) を必要とするが、*H. akashiwo* の休眠期細胞の発芽は、光が殆どあたらぬ条件下でも、温度条件 (約  $15^\circ\text{C}$  以上) さえ好適であれば起こるといふ。本調査で *H. akashiwo* が卓越したのは、底層の水温が  $15^\circ\text{C}$  に達して (5/28) から、約 2 週間後 (6/11) であった。この海域で毎年ほぼ同様な時期に *H. akashiwo* が卓越してくることは、休眠期細胞の発芽条件 (この場合底層水温) とも深く関係していると推察される。

*Skeletonema* の栄養細胞が海水中に卓越したのは、水温成層が崩壊した時期に一致していた。鉛直混合のような海水の擾乱が起きる時期には、海底泥中に存在する珪藻類休眠期細胞の一部が巻き上げられ、発芽に十分な光条件下にさらされることが予想される。そこで、Fig. 1-27 に、各調査時の 0, 5, B-1 m における水中光量子量を示した。ここでは珪藻類の休眠期細胞の発芽に必要な光条件の変動について考えてみる。調査は、おおむね午前 10 時前後に行われたが、そのときの水中光量子量は、0 m では  $10^3 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、5 m では  $10^2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、B-1 m では  $10^{-1} \sim 10^1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の範囲で変動していた。底層の光量子量が比較的大きく変動したのは、調査時の水深の違いも大きく影響していると考えられる。多くの場合、底層における光量子量は  $1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以上の値を示しており、珪藻類の休眠期細胞が発芽するのに十分な光条件 (Hollibough et al. 1981)

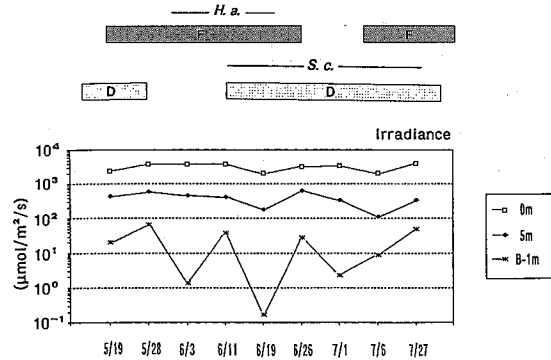


Fig. 1-27. Temporal change of the light intensities in the water column at the station (0, 5 and B-1 m).

であったと考えられる。ただし、海底泥に達する光は海水を通過する際に長波長および短波長の光が吸収され減衰し、波長組成が変化する。この場合、底層 (B-1 m) に到達した  $10^{-1} \sim 10^1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  程度の光強度が本当に珪藻類休眠期細胞の発芽に十分であったかどうかについては疑問も残る。この点については今後さらに発芽に与える光の波長組成の影響に関する検討が必要である。

本調査によって、広島湾で夏季に観察される鞭毛藻 (*Heterosigma*) と珪藻 (*Skeletonema*) の種交替現象において海底泥中の休眠期細胞が seed bank として機能していることが示唆された。特に *Skeletonema* は、夏季の水温成層期に (潮流あるいは強風等によって) 突発的に起こる、成層の崩壊 (鉛直混合) に伴って海水中に出現している様子が窺われた。成層の崩壊時には、底泥中の休眠細胞の一部が巻き上げられる可能性が高くなるのと同時に、底層に蓄積された栄養塩が表層にもたらされるため、珪藻類休眠期細胞の発芽とその後の栄養細胞の増殖に好適な条件が一時的に整うものと理解される。このような時期に出現した珪藻類は、表層の栄養を速やかに消費して増殖する一方で、再び休眠期細胞を形成して海底に沈降し、海底泥中の seed bank に新たに補給されるものと考えられる。

## 第 2 章 浮遊珪藻類休眠期細胞の形成要因

浮遊珪藻類休眠期細胞の形成要因は、現場水域における浮遊珪藻類の個体群動態を考える上で重要な要因の一つであろう。休眠期細胞の形成は現場において珪藻類が海水中から消失する時期の環境要因と密接な関係を持つと考えられる (中原・左子 1987)。季節、あるいは水域による環境の変動が著しい沿岸水域において浮遊珪藻類が生残するためには、栄養細胞として海水中に出現するタイミングと同様に、休眠期細胞となって底層に沈降するタイミングも非常に重要であると判断される。

本章では、現場水域における環境条件 (特に栄養塩濃

度)と *Chaetoceros* 休眠孢子<sup>1</sup>の分布密度に関する観察例、および、室内培養条件下における *Chaetoceros* 休眠孢子と *Skeletonema* 休眠細胞<sup>2</sup>の形成実験、のそれぞれの結果について述べ、浮遊珪藻類の休眠期細胞(休眠孢子と休眠細胞)の形成要因を把握することを目的とした。

### 第1節 夏季播磨灘の環境条件と *Chaetoceros* 休眠孢子<sup>1</sup>の分布との関係

ここでは、現場観察の結果から *Chaetoceros* の休眠孢子<sup>1</sup>形成に関与する要因を把握することを目的とし、1991年夏季に播磨灘で観察された *Chaetoceros* 休眠孢子<sup>1</sup>の分布と環境条件の特徴を述べ、両者の関係について考察する。

#### 材料と方法

1991年7月14~18日の間、水産庁南西海区水産研究所の調査船“しらふじ丸”(138トン)によって、東部瀬戸内海の播磨灘(34測点: Fig. 2-1)で現場調査を行った。

採水にはバンドーン採水器を用い、各測点で水深0, 5, 10, 20, …… B-1 m(海底上1 m)深の海水を採取した。そのうち水深0, 5, 10, B-1 m深の試水については、採水当日に顕微鏡観察を行い、各試水中の植物プランクトン(*Chaetoceros*の栄養細胞および休眠孢子を含む)の出現密度(cells・ml<sup>-1</sup>)を調べた。また、すべての海水試料を採取直後にグラスファイバーフィルター(Whatman GF/C)で濾過(500 ml)し、濾過海水およびフィルターを凍結保存して研究室に持ち帰った。そ

の後、濾過海水中の無機栄養塩(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P, SiO<sub>2</sub>-Si)を、Strickland and Parsons(1972)の方法に準じて栄養塩自動分析装置(TrAAs 800, Bran+Luebbe社)を用いて測定した。なお、DIN(溶解態無機窒素)の値は、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Nの合計値とした。また、グラスファイバーフィルター上に捕集した植物プランクトンについては、90%アセトンで抽出を行った後、蛍光光度計(model 110, TURNER DESIGNS社)で蛍光強度を測定し、クロロフィルaの定量を行った。

#### 結果及び考察

播磨灘表層水における *Chaetoceros* の分布 本調査で休眠孢子<sup>1</sup>が顕著に観察されたのは、*C. curvisetus*, *C. distans*, *C. lauderi*の3種であった。これら3種と、*Chaetoceros* spp.(上記3種を含む)について、総細胞数(栄養細胞と休眠孢子<sup>1</sup>の合計)と休眠孢子<sup>1</sup>数の表層水における分布を以下に述べる。なお、各測点の0 mおよび5 m深における細胞密度の平均値(cells・ml<sup>-1</sup>)を、表層水における *Chaetoceros* の分布密度とした。

##### 1. *Chaetoceros curvisetus*

各測点の表層水における *C. curvisetus* の総細胞と休眠孢子<sup>1</sup>の分布密度を Fig. 2-2 に示す。*C. curvisetus*(総細胞; Fig. 2-2a)は、灘の北西部沿岸を中心に比較的高密度(4.0×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>以上)で存在しており、最高値は St. 30 の 9.1×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>であった。一方、灘の中央~東側では少なく、広い範囲で1.0×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>以下の密度であった。休眠孢子<sup>1</sup>の分布をみると(Fig. 2-2b)、灘北西部、小豆島の南東部、および灘南部の局所的な水域において比較的高密度(1.0~4.0×10<sup>1</sup> cells・ml<sup>-1</sup>)で存在しており、南部沿岸の St. 32 で 4.6×10<sup>1</sup> cells・ml<sup>-1</sup>の最高値が観測された。

##### 2. *Chaetoceros distans*

各測点の表層水における *C. distans* の総細胞と休眠孢子<sup>1</sup>の分布密度を Fig. 2-3 に示す。*C. distans*(総細胞; Fig. 2-3a)は、灘北部沿岸を中心に4.0×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>以上の密度で存在し、広い範囲で2.0×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>以上の比較的高い密度であった(最高値: 家島諸島北の St. 29, 9.5×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>)。休眠孢子<sup>1</sup>(Fig. 2-3b)は、小豆島東部の水域と灘北東部沿岸で比較的高密度で存在しており、特に灘北東部の St. 26 で最も多く、4.4×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>の密度であった。

##### 3. *Chaetoceros lauderi*

各測点の表層水における *C. lauderi* の総細胞と休眠孢子<sup>1</sup>の分布密度を Fig. 2-4 に示す。*C. lauderi*(総細胞; Fig. 2-4a)は、灘南部を中心に存在しており、特に鳴門海峡から淡路島西部沿岸にかけての水域と小豆島南部においては、2.0×10<sup>2</sup> cells・ml<sup>-1</sup>以上の密度で検出され

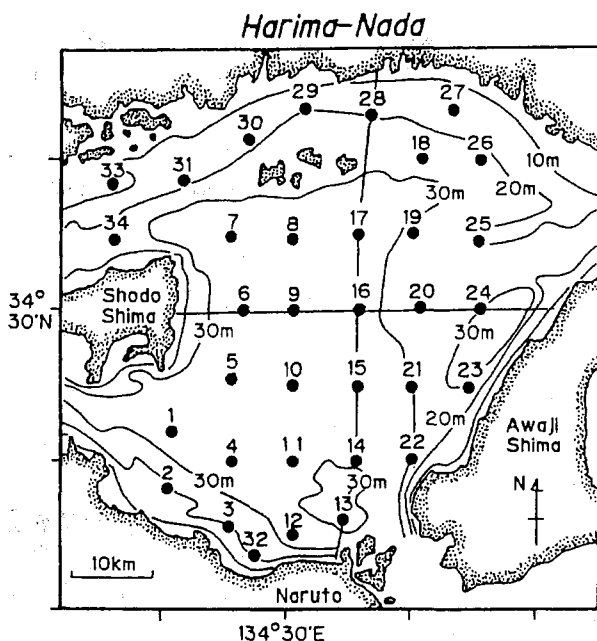


Fig. 2-1. Location of the sampling stations in Harima-Nada showing positions of transect stations.



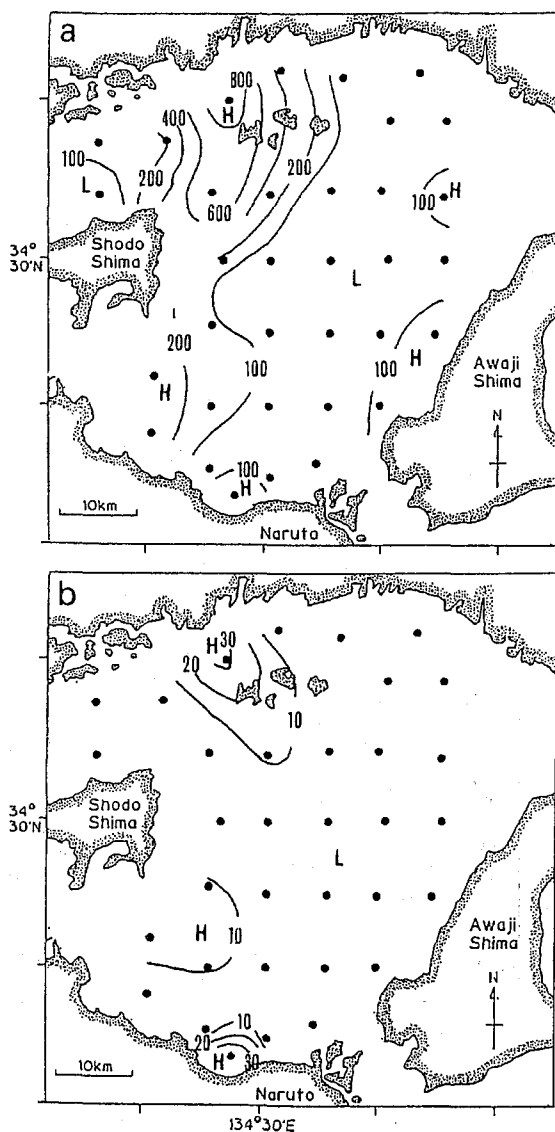


Fig. 2-2. Horizontal distribution of *Chaetoceros curvisetus* in surface water (average cell densities of 0 and 5 m; cell  $\cdot$  ml $^{-1}$ ). a: total cells. b: resting spores.

た (最高値: 淡路島西南付近の St. 22,  $3.4 \times 10^2$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ )。一方、灘の中央から北側の水域においては比較的低密度であった ( $1.0 \times 10^2$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  以下)。休眠孢子 (Fig. 2-4b) は、小豆島の東部から灘の南西部にかけての水域で比較的多く検出された。特に、小豆島の東部 (St. 6) で最も多く、 $5.3 \times 10^1$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  の密度であった。

#### 4. *Chaetoceros* spp.

各測点の表層水における *Chaetoceros* 属 (観察された *Chaetoceros* の合計, 上述の3種も含む) の総細胞と休眠孢子の分布密度を Fig. 2-5 に示す。*Chaetoceros* spp. の総細胞 (Fig. 2-5a) は、灘北部沿岸を中心に高密度 ( $2.0 \times 10^4$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  以上) で存在していた (最高値:

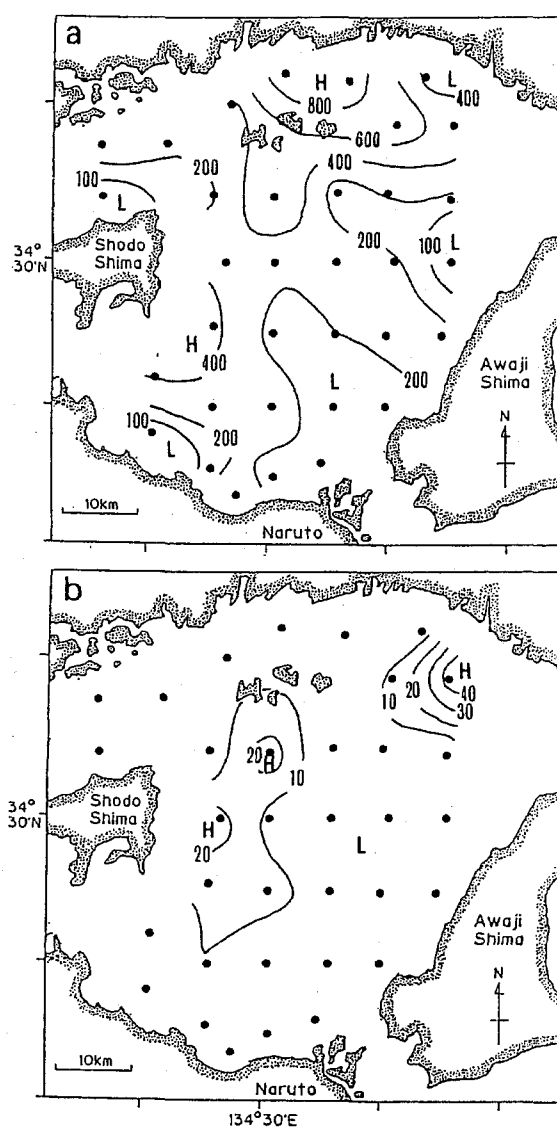


Fig. 2-3. Horizontal distribution of *Chaetoceros distans* in surface water (average cell densities of 0 and 5 m; cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ ). a: total cells. b: resting spores.

高砂市沖の St. 27,  $6.7 \times 10^4$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ )。一方、明石海峡南部から灘南部沿岸にかけての帯状の水域においては、やや低密度 ( $1.0 \times 10^4$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  以下) であった。休眠孢子 (Fig. 2-5b) は、灘北東部の沿岸と、小豆島の東部付近の水域において、それぞれ  $5.0 \times 10^1$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$  以上の密度で検出された (最高値: St. 26,  $2.8 \times 10^2$  cells  $\cdot$  ml $^{-1}$ )。

以上のように、*Chaetoceros* の休眠孢子は、それぞれの種が比較的高密度で存在する水域の近くで検出された。

播磨灘の海況 本調査で観測された播磨灘の海況 (水温, 塩分, クロロフィル, 栄養塩濃度の水平・鉛直分布) について以下に記す。

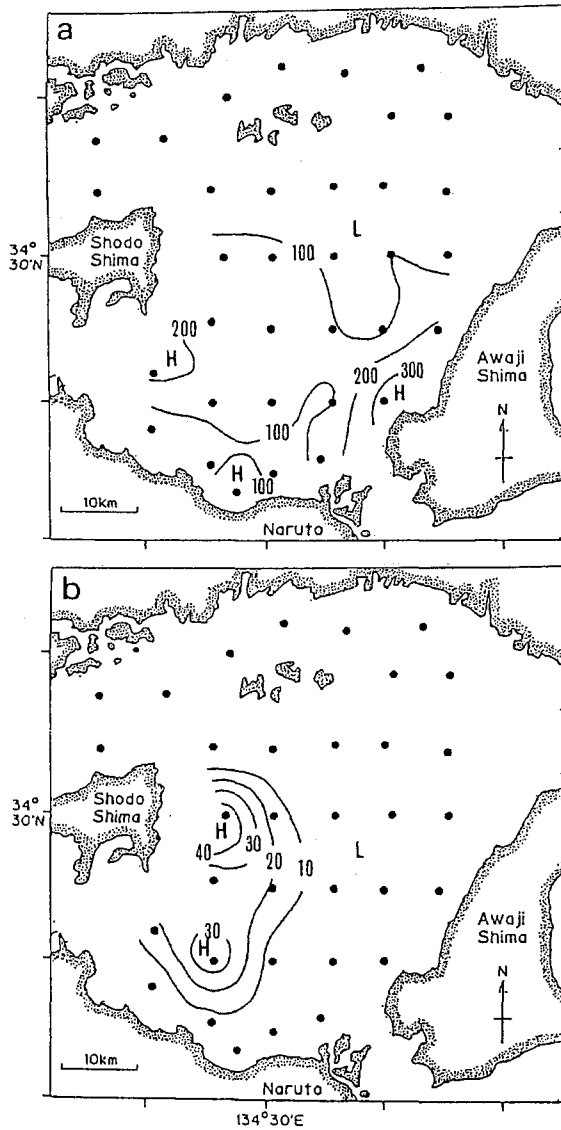


Fig. 2-4. Horizontal distribution of *Chaetoceros lauderi* in surface water (average cell densities of 0 and 5 m; cells · ml<sup>-1</sup>). a : total cells. b : resting spores

### 1. 環境要因の水平分布

調査時の播磨灘表層水における水温、塩分、ならびにクロロフィル *a*, DIN (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N の合計), PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P, SiO<sub>2</sub>-Si 濃度の水平分布を Fig. 2-6 に示す。なお、各測点の 0 および 5 m 深における値の平均値を、それぞれ各項目の表層水の値とした。

#### 1) 水温

表層水温は 21.8~24.8°C の範囲にあり、海峡部に近い、灘西部、東部、南東部の各水域では、23°C 以下の比較的低い水温であった。特に、鳴門海峡に近い St. 13 では 21.8°C と、表層での最低値が観測された。一方、灘北東部沿岸域と、淡路島南西部の沿岸の局所には、24°C 以上の比較的高水温の水域が存在していた。

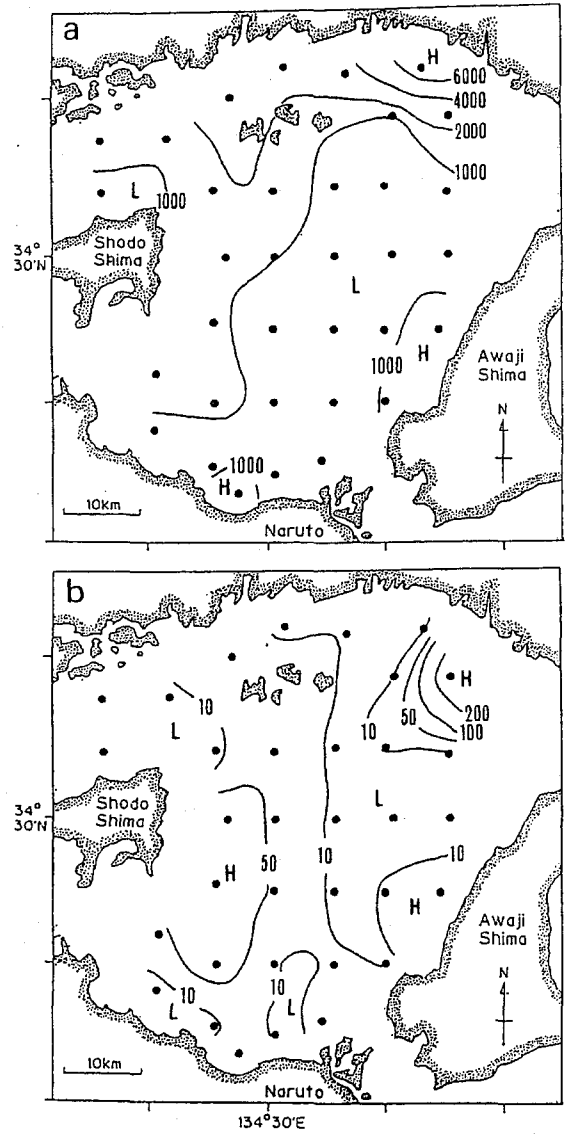


Fig. 2-5. Horizontal distribution of *Chaetoceros* spp. (including *C. curvisetus*, *C. distans* and *C. lauderi*) in surface water (average cell densities of 0 and 5 m; cells · ml<sup>-1</sup>). a : total cells. b : resting spores.

#### 2) 塩分

表層塩分は 28.8~31.2 の範囲にあった。南部の鳴門海峡付近から灘中央部にかけて塩分31の水域が広がっていたが、灘北部、南西部沿岸、および淡路島南西部沿岸においては、31以下のやや低い値であった。特に、灘北東部のごく沿岸 (St. 27) においては、28.8と最も低い値が観測され、河川水流入の影響を受けていることがわかる。

#### 3) クロロフィル *a*

表層のクロロフィル *a* の濃度は 0.8~15.1 μg · l<sup>-1</sup> の範囲にあった。灘北部沿岸の広い範囲と南西部の局所で、比較的高濃度の高い (4 μg · l<sup>-1</sup> 以上) 水域が認められた。特に、河川水流入の影響を受けている北東部のごく沿岸 (St. 27) において、最高値 (15.1 μg · l<sup>-1</sup>) が

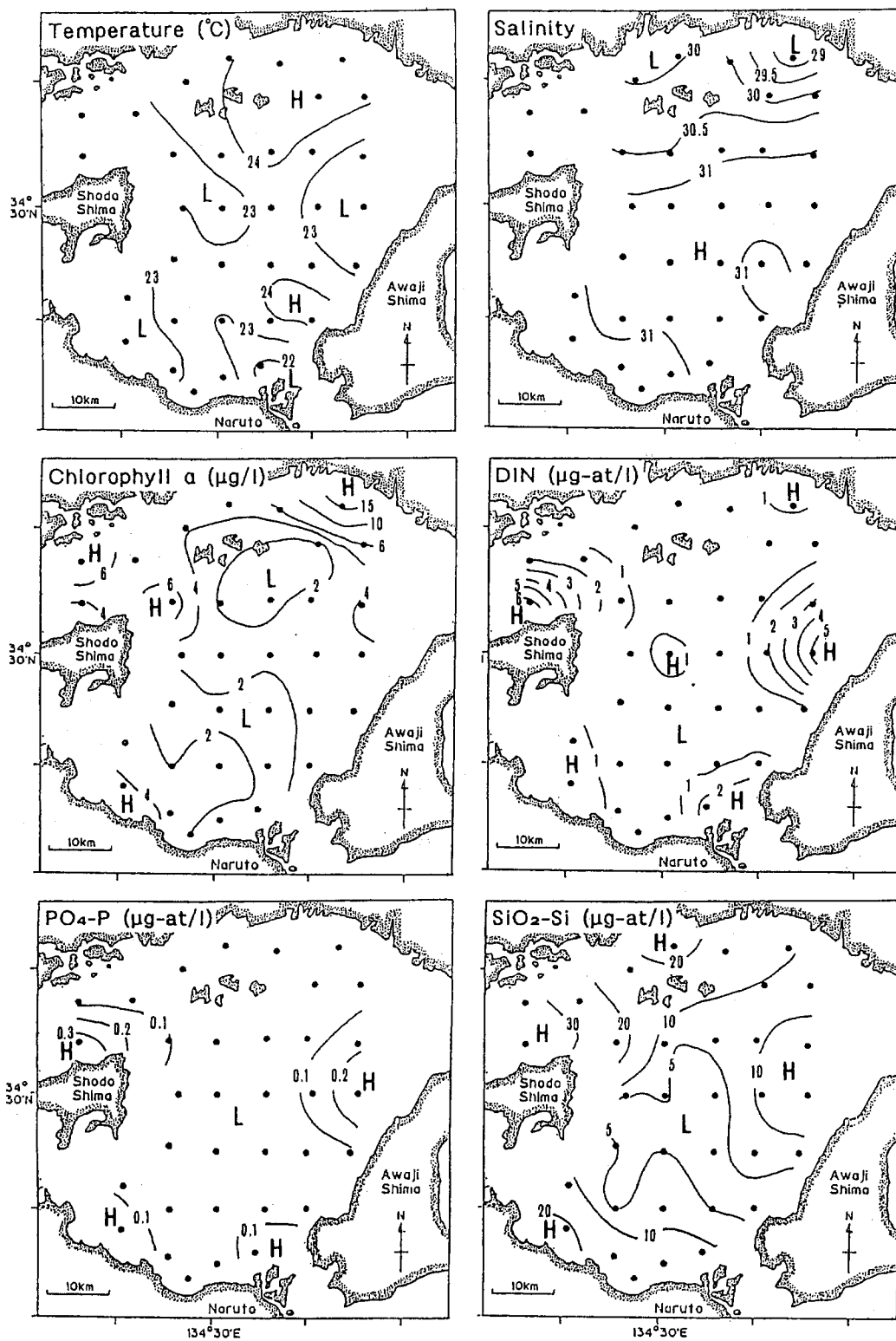


Fig. 2-6. Horizontal distributions of temperature, salinity, chlorophyll *a*, DIN, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P and SiO<sub>2</sub>-Si in surface water (average values of 0 and 5 m).

観測された。一方、 $2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  以下の低濃度域が、灘中央部の北と南に存在していた。

#### 4) DIN

表層の DIN は  $0.2 \sim 6.5 \mu\text{M}$  の範囲にあり、灘のかなり広い範囲で  $1 \mu\text{M}$  以下の低い値が観測された。ただし、小豆島北部および南部、明石海峡付近と鳴門海峡付近の、4つの海峡付近では、 $1 \mu\text{M}$  以上の比較的高い値であった。また、灘北東部沿岸 (St. 27) と、中央部 (St. 9) でも、 $1 \mu\text{M}$  以上の値が観測された。

#### 5) $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$

表層の  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  は  $0.03 \sim 0.4 \mu\text{M}$  の範囲にあった。分布傾向は DIN の場合とほぼ同様であり、海峡部付近で高く ( $0.1 \mu\text{M}$  以上)、灘の広い範囲で低くなっていた ( $0.1 \mu\text{M}$  以下)。

#### 6) $\text{SiO}_2\text{-Si}$

表層の  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  は  $3.7 \sim 36.5 \mu\text{M}$  の範囲にあった。淡路島南西部から灘中央部に向かって、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$  が  $5 \mu\text{M}$  以下の低濃度域が帯状に広がっていた。それ以外の水域では、概ね  $10 \mu\text{M}$  以上の値であり、特に灘北西部と南

西部では  $20 \mu\text{M}$  以上の比較的高い値が観測され、DIN や  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  とはやや異なった分布傾向であった。

#### 2. 環境要因の鉛直分布

a) 東西断面 調査時の水温、塩分、クロロフィル *a*、DIN ( $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ,  $\text{NO}_2^- \text{-N}$ ,  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$  の合計)、 $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 、 $\text{SiO}_2\text{-Si}$  濃度の各項目について、東西 (Sts. 24~6) 断面での鉛直分布を Fig. 2-7 に示す。

##### 1) 水温

水温は  $17.7 \sim 23.4^\circ\text{C}$  の範囲にあり、表層 (水深 10 m 以下) では概ね  $22^\circ\text{C}$  以上であった。海峡部に近い St. 24 では表面水温 ( $22.2^\circ\text{C}$ ) と底層水温 ( $21.6^\circ\text{C}$ ) の差は少なく、海峡部での海水の上下混合の影響を受けていると考えられた。一方、St. 20 より西側においては顕著な水温成層が観察された。特に St. 6 では 0 m 層 ( $23.4^\circ\text{C}$ ) と B-1 m 層 ( $17.7^\circ\text{C}$ ) の水温差が  $5^\circ\text{C}$  以上となっていた。

##### 2) 塩分

塩分は  $31.0 \sim 31.8$  の範囲にあり、あまり大きな変化は観察されなかった。しかしながら、分布傾向は水温の場合と同様で、東側 (St. 24) で表層と底層の差が少な

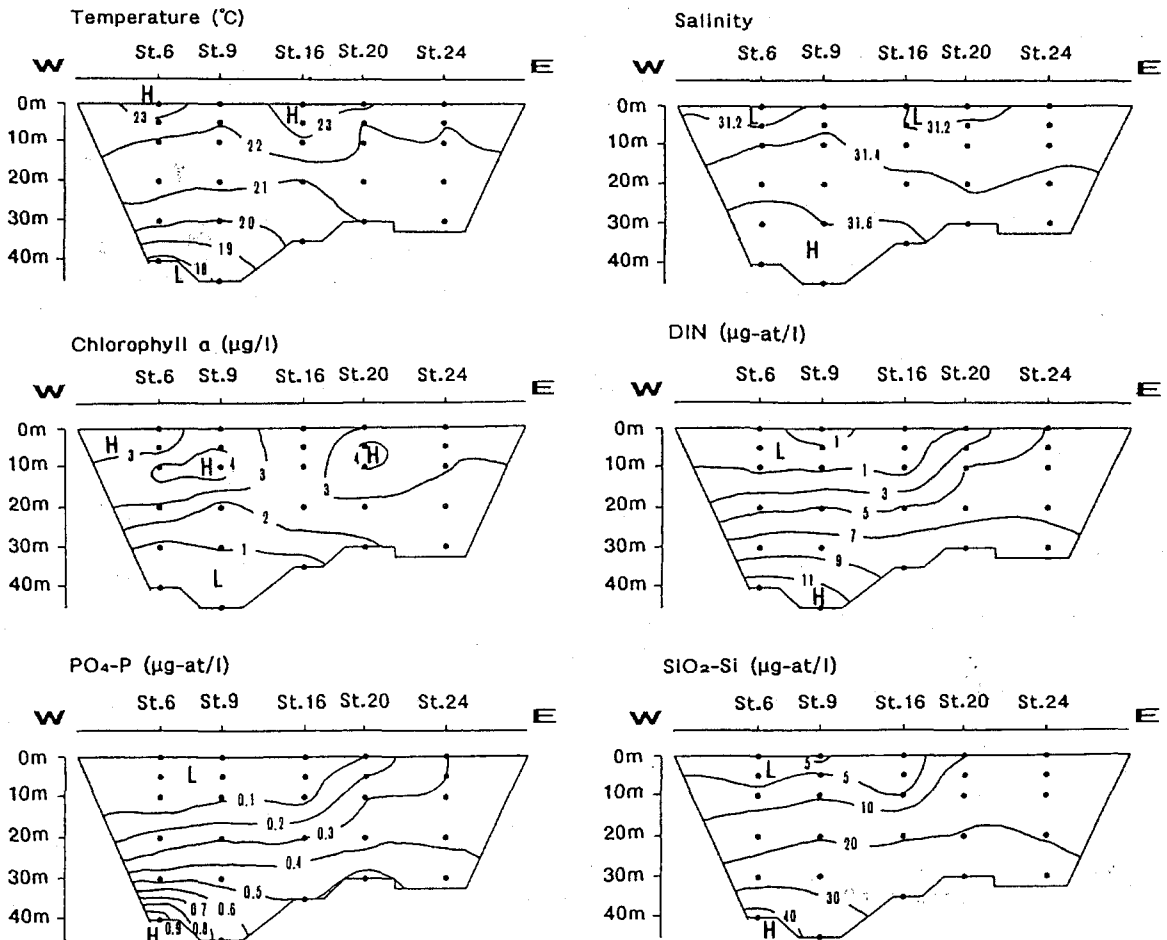


Fig. 2-7. Vertical profiles of temperature, salinity, chlorophyll *a*, DIN,  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  and  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  along a transect from St. 6 to 24 (west to east).

く(約0.2), 西側(St. 6)で多い(約0.7)という傾向がみられた。

### 3) クロロフィル *a*

クロロフィル *a* 濃度は  $0.3\sim 4.7\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  の範囲にあった。St. 20 の  $5\sim 10\ \text{m}$  深と, St. 9 と St. 6 の  $10\ \text{m}$  中心に比較的高濃度 ( $3\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  以上) の範囲が広がっていた。一方, 水深  $30\ \text{m}$  以深では概ね  $1\ \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  以下の低い値であった。

### 4) DIN

DIN は  $0.2\sim 12.1\ \mu\text{M}$  の範囲にあり, 水温の分布と同様な傾向が認められた。水温成層が発達していた St. 20 から西側の水域では, 表層 ( $10\ \text{m}$  以浅) で  $1\ \mu\text{M}$  以下の低い値になっていた。また, これらの水域の底層では, いずれも  $7\ \mu\text{M}$  以上の高い値が観測されており, 表層と底層で大きな濃度差が認められた。一方, 水温の表底層差が少なかった St. 24 においては, DIN の濃度も  $0\ \text{m}$  層 ( $5.1\ \mu\text{M}$ ) と B-1 m 層 ( $7.7\ \mu\text{M}$ ) の差が比較的小なかった。

### 5) $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$

$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  は  $0.02\sim 1.0\ \mu\text{M}$  の範囲にあり, 水温や DIN と同様な分布傾向を示していた。St. 20 西側において

は, 表層 ( $10\ \text{m}$  以浅) で  $0.1\ \mu\text{M}$  以下の低い値, 底層 ( $30\ \text{m}$  以深) で  $0.5\ \mu\text{M}$  以上の高い値を示し, 表層と底層の濃度差が大きかった。一方, St. 24 では  $0\ \text{m}$  層 ( $0.3\ \mu\text{M}$ ) と B-1 m 層 ( $0.4\ \mu\text{M}$ ) の濃度差が少なかった。

### 6) $\text{SiO}_2\text{-Si}$

$\text{SiO}_2\text{-Si}$  は  $2.4\sim 44.0\ \mu\text{M}$  の範囲にあり, 他の栄養塩と同様な分布傾向を示していた。  $10\ \mu\text{M}$  以下の低い値の範囲が St. 20 から西側の表層 ( $10\ \text{m}$  以浅) にみられ, 底層 ( $30\ \mu\text{M}$  以上) との濃度差が大きく, St. 24 では  $0\ \text{m}$  層 ( $16.3\ \mu\text{M}$ ) と B-1 m 層 ( $21.1\ \mu\text{M}$ ) の濃度差が少なかった。

東西断面の分布の特徴として, 東側(St. 24)で各項目の値とも表底層の差があまり大きくなかったことが挙げられる。これは, 明石海峡に近い St. 24 付近で, 海水の上下混合によって比較的均一な水塊が形成されていたことを示すものであろう。しかし, 西側に向かうにしたがってその影響は弱まり, 水温成層が発達するにつれて各項目の値の表底層差も大きくなっていった。

b) 南北断面 各項目の測定値の, 南北(Sts. 13~28)断面での鉛直分布を Fig. 2-8 に示す。

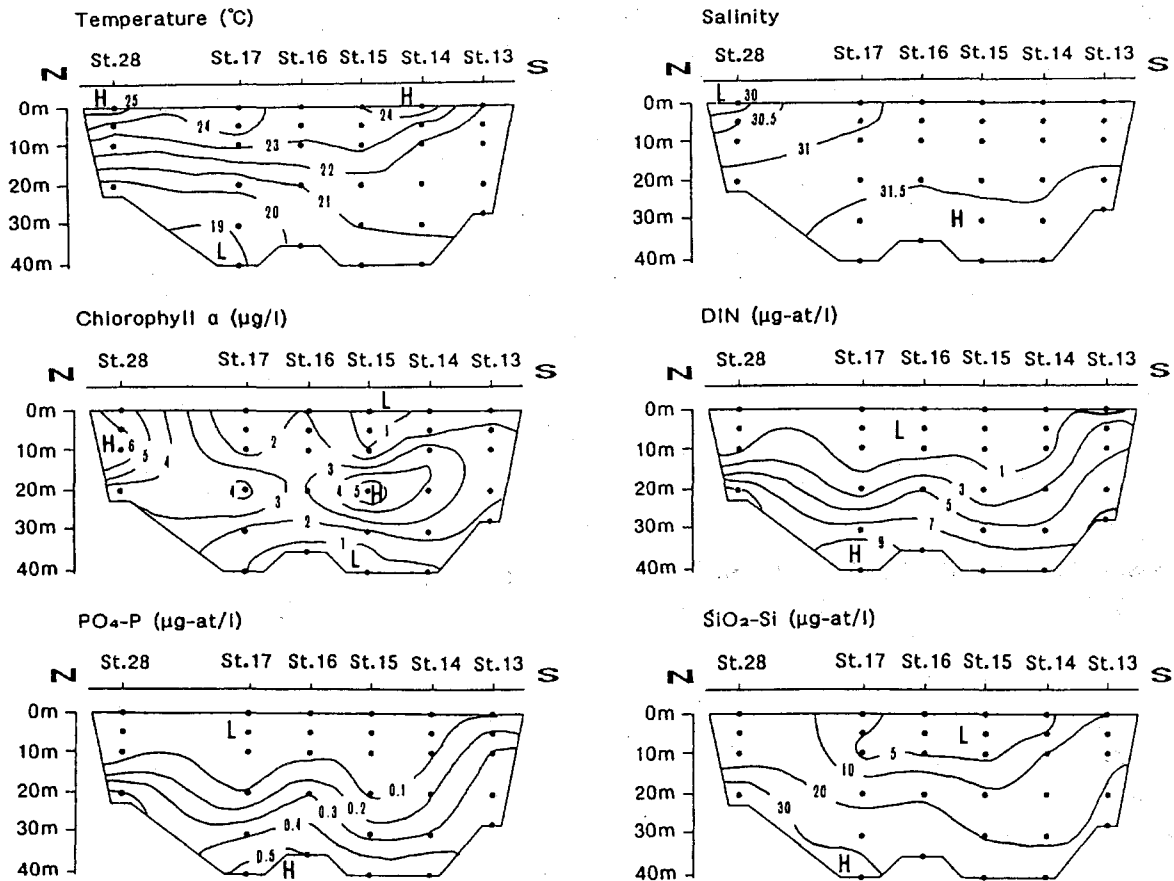


Fig. 2-8. Vertical profiles of temperature, salinity, chlorophyll *a*, DIN,  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  and  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  along a transect from St. 28 to 13 (north to south).

## 1) 水温

水温は 18.9~25.6°C の範囲にあり、南 (St. 13) から北 (St. 28) に行くにしたがって表底層の温度差が大きくなる傾向にあった。表面 (0 m) はすべて 22°C 以上の温度であったが、北部沿岸の St. 28 の 0 m 層において、25.6°C と最も高い水温が観測された。鳴門海峡に近い St. 13 では、0 m 層 (22.1°C) と B-1 m 層 (20.9°C) の水温差は比較的少なかった。

## 2) 塩分

塩分は 29.7~31.6 の範囲にあり、南側の底層から北部表層に向かって次第に塩分が低下する傾向がみられた。北部沿岸 (St. 28) の 0 m 層において 29.7 と最も低い塩分が観測されたが、これは河川水流入の影響によるものと考えられた。

3) クロロフィル *a*

クロロフィル *a* 濃度は 0.6~7.0  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  の範囲にあり、北部沿岸 (St. 28) の 5~10 m 層 (6  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) を中心に、St. 17 の 20 m 層にかけて比較的高い値 (3  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  以上) の範囲が存在した。また、St. 15 の 20 m 層 (5.9  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ ) を中心に、St. 16 の 20 m 層と St. 14 の 10~20 m 層にかけての範囲においても高い値 (3  $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$  以上) が観測された。

## 4) DIN

DIN は 0.2~10.8  $\mu\text{M}$  の範囲にあり、St. 14 から St. 28 にかけての表層 (10 m 以浅) では 1  $\mu\text{M}$  以下の低い値であった。また、底層ではいずれも 7  $\mu\text{M}$  以上の値を示し、St. 17 の B-1 m 層で 10.8  $\mu\text{M}$  の最高値が観測された。一方、鳴門海峡に近い St. 13 においては、各層における値が、それぞれ他の測点の同じ水深の値と比較して高くなっていった。

5)  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$ 

$\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  は 0.03~0.52  $\mu\text{M}$  の範囲にあり、分布傾向は、DIN の場合とよく似ていた。すなわち、St. 14 から St. 28 にかけての表層 (10 m 以浅) では 0.1  $\mu\text{M}$  以下の低濃度であり、底層ではいずれも 0.4  $\mu\text{M}$  以上の比較的高い値を示していた。

6)  $\text{SiO}_2\text{-Si}$ 

$\text{SiO}_2\text{-Si}$  は 2.4~38.1  $\mu\text{M}$  の範囲にあり、St. 14 から St. 17 にかけての表層 (10 m 以浅) に 10  $\mu\text{M}$  以下の比較的低濃度の水塊が存在していた。特に St. 15 と St. 16 の表層では、5  $\mu\text{M}$  以下のかかなり低い値が観測された。St. 28 では表層でも 10  $\mu\text{M}$  以上の比較的高い値であったが、これは河川水の影響であろう。底層においては、概ね 20  $\mu\text{M}$  以上の値を示しており、St. 28 の B-1 m 層で 38.1  $\mu\text{M}$  の最高値が観測された。

以上のように、調査時の播磨灘においては、海峡付近を除く比較的広い範囲で水温成層が発達し、表層 (10 m 以浅) の大部分では貧栄養の状態にあった。これは、

*Chaetoceros* 属等の植物プランクトンの増殖により、表層の栄養塩が消費された結果と判断できる。一方、底層では高い栄養塩濃度が観測されたが、これらは底泥からの栄養塩の溶出によるものであろう。

播磨灘の各測点の各深度における栄養塩濃度のデータ (n=175) から、DIN と  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  (Fig. 2-9)、ならびに DIN と  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  (Fig. 2-10) の相関関係を調べた。DIN (=X) と  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  (=Y) の濃度 ( $\mu\text{M}$ ) の間には、高い相関関係 ( $Y=0.019+0.053X$ ,  $r=0.97$ ) がみられたが、DIN (=X) と  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  (=Y) の濃度の間には、それほど高い相関関係は認められなかった ( $Y=8.96+2.31X$ ,  $r=0.83$ )。なお、いずれの場合も回帰直線の Y 切片が正の値であったことから、DIN が他の栄養塩 ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  と  $\text{SiO}_2\text{-Si}$ ) よりも先に枯渇する傾向がある

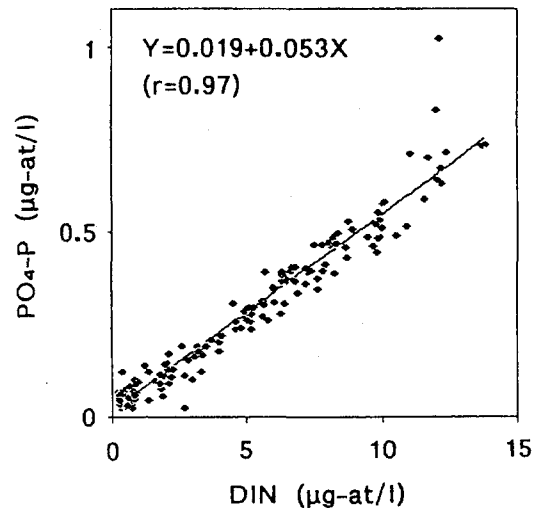


Fig. 2-9. Relationship between DIN and  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  in Harima-Nada (n=175).

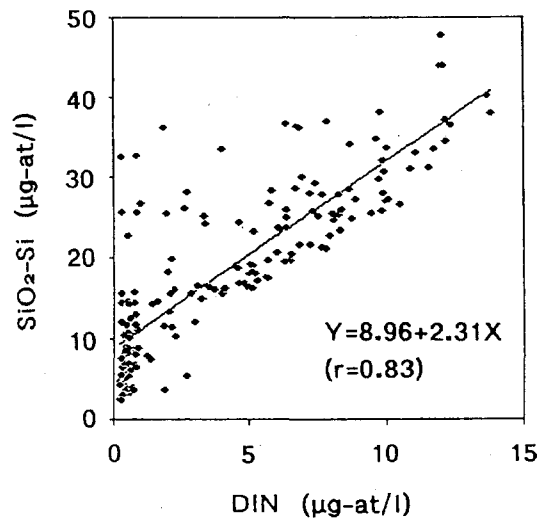


Fig. 2-10. Relationship between DIN and  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  in Harima-Nada (n=175).

ものと考えられた。これらの回帰直線の傾きから、水中の N, P, Si が消費される割合（原子比）を求めると、N:P:Si=18.8:1:43.4 になる。Raymont (1980) が、いわゆるレッドフィールド比などをもとに示した値 (N:P:Si=16:1:15) とこの値を比較すると、N と P についてはほぼ同様な割合と判断できるが、Si の割合は明らかに大きい。しかしながら、これらの値のうち、特に Si については、水域に存在するプランクトンの種組成によってその値が大きく変動することが知られている (Raymont, 1980)。調査時の播磨灘においては、Si を大量に消費する植物プランクトンである珪藻類が比較的多く存在していたために、上述の Si の値の割合が大きくなったと推察される。

*Chaetoceros* の休眠孢子形成が、栄養塩欠乏（特に窒素欠乏）によって起こることは、これまでも培養条件下や現場の観察から示唆されている (Hollibaugh *et al.* 1981, Garrison 1981, Hargraves and French 1983, Kuwata and Takahashi 1990)。たとえば Garrison (1981) は、現場における調査結果から、*Chaetoceros* の休眠孢子形成は、表層水中の  $\text{NO}_3^-$ -N 濃度が約  $1 \mu\text{M}$  以下になった時に観察され、 $\text{SiO}_2$ -Si 濃度の変化は休眠孢子形成の引き金にはなっていないと結論した。また、Kuwata and Takahashi (1990) は、休眠孢子的形成に際しては、厚い珪酸質の殻を作るために多くの珪素が必要とされるので、 $\text{SiO}_2$ -Si 濃度があまり低下すると（約  $4\sim 6 \mu\text{M}$ ）休眠孢子が形成されなくなることを示している。そこで、今回の調査で観察された *Chaetoceros* 休眠孢子形成と栄養塩濃度（特に DIN と  $\text{SiO}_2$ -Si）との関係を中心に以下に検討を行う。

**栄養塩濃度と *Chaetoceros* 休眠孢子形成** 海水中の DIN 濃度と休眠孢子形成との関係を把握するため、各測点の 0, 5, 10 m 深におけるデータから、DIN 濃度と *Chaetoceros* 総細胞数、DIN 濃度と休眠孢子数、DIN 濃度と休眠孢子的割合（総細胞数に対する休眠孢子的割合、%）、のそれぞれについて種ごとにプロットした。Fig. 2-11~Fig. 2-14 にその結果を示す。

DIN 濃度とそれぞれの種の *Chaetoceros* 総細胞数の関係を見ると (Fig. 2-11~Fig. 2-14, 上段)、いずれの種においても、DIN 濃度と総細胞数の間に有意な関係は認められなかった。また、DIN 濃度と休眠孢子数との間 (Fig. 2-11~Fig. 2-14, 中段) には、DIN が少なくなると孢子数がやや多くなる傾向がみられたものの、この場合にもその関係はさほど明らかではなかった。一方、DIN 濃度と休眠孢子的割合 (%) との間では (Fig. 2-11~Fig. 2-14, 下段)、いずれの種においても、DIN 濃度がある一定の値より低くなると休眠孢子的割合が高い場合が多くなる、という関係が認められた。すなわち、海水中の DIN 濃度が約  $1 \mu\text{M}$  以下に低下すると、*Chaetoceros*

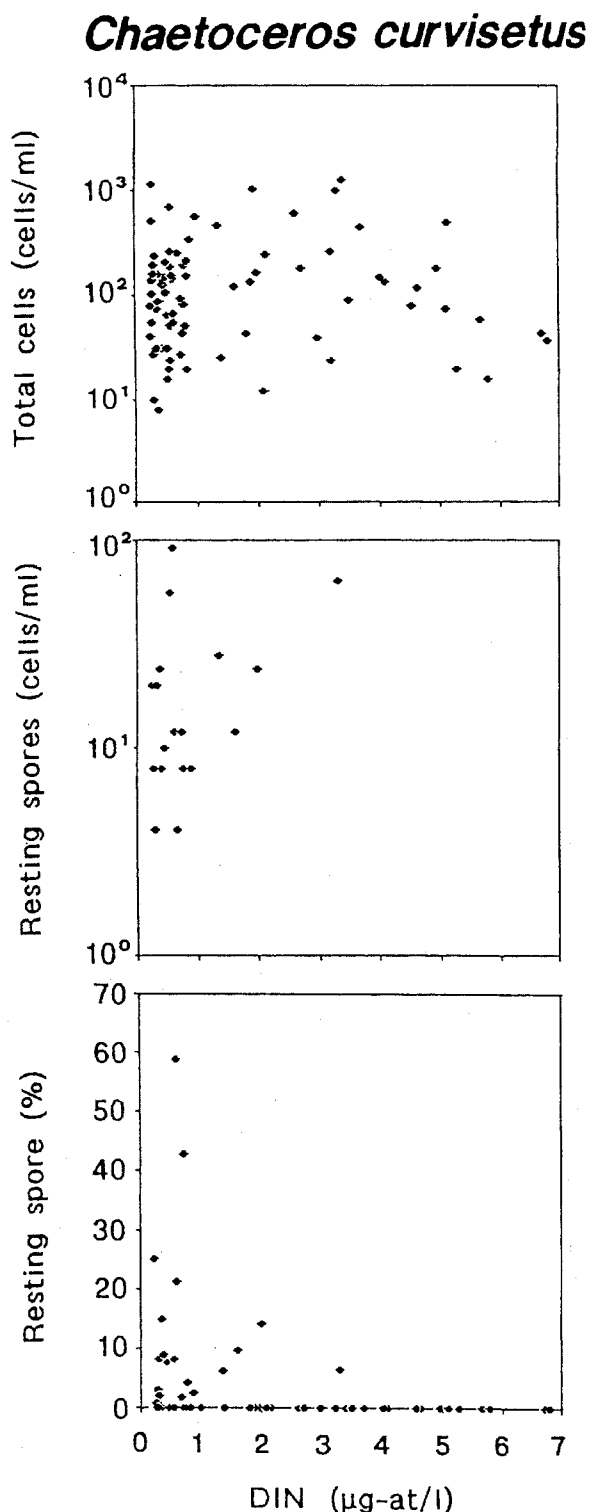


Fig. 2-11. Relationship between ambient DIN concentrations versus total cells (upper), resting spores (middle), and resting spore percentages (bottom) of *C. curvisetus*.

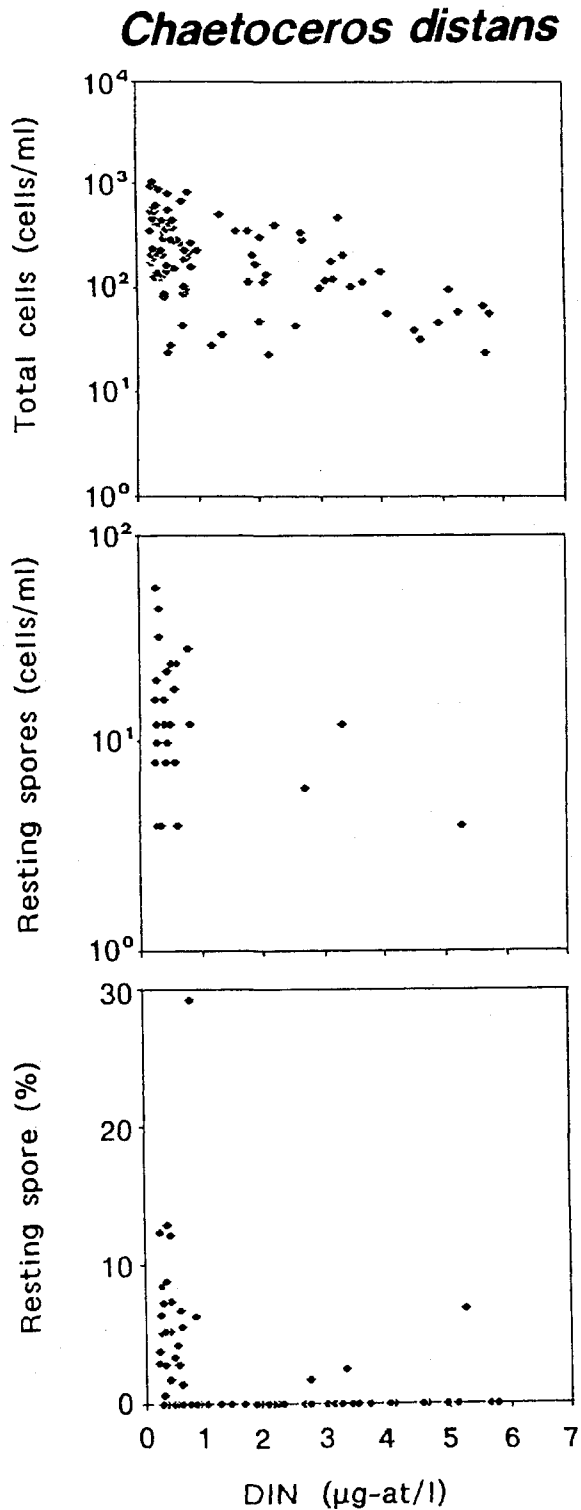


Fig. 2-12. Relationship between ambient DIN concentrations versus total cells (upper), resting spores (middle), and resting spore percentages (bottom) of *C. distans*.

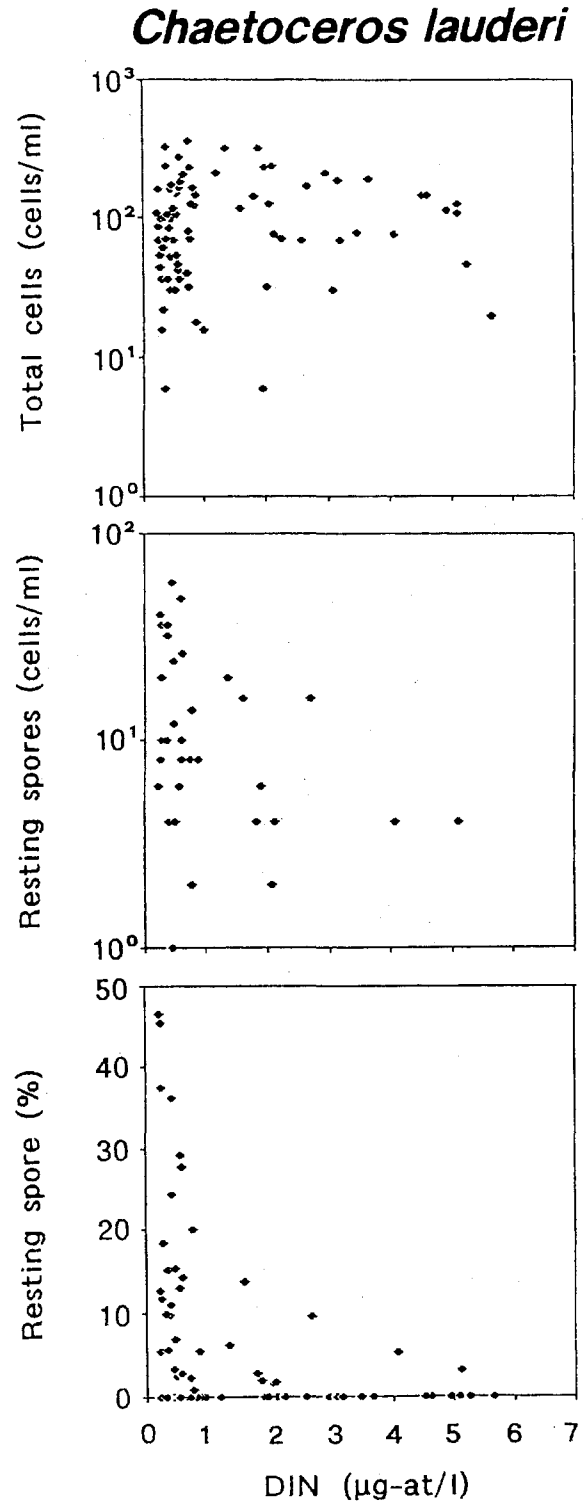


Fig. 2-13. Relationship between ambient DIN concentrations versus total cells (upper), resting spores (middle), and resting spore percentages (bottom) of *C. lauderi*.



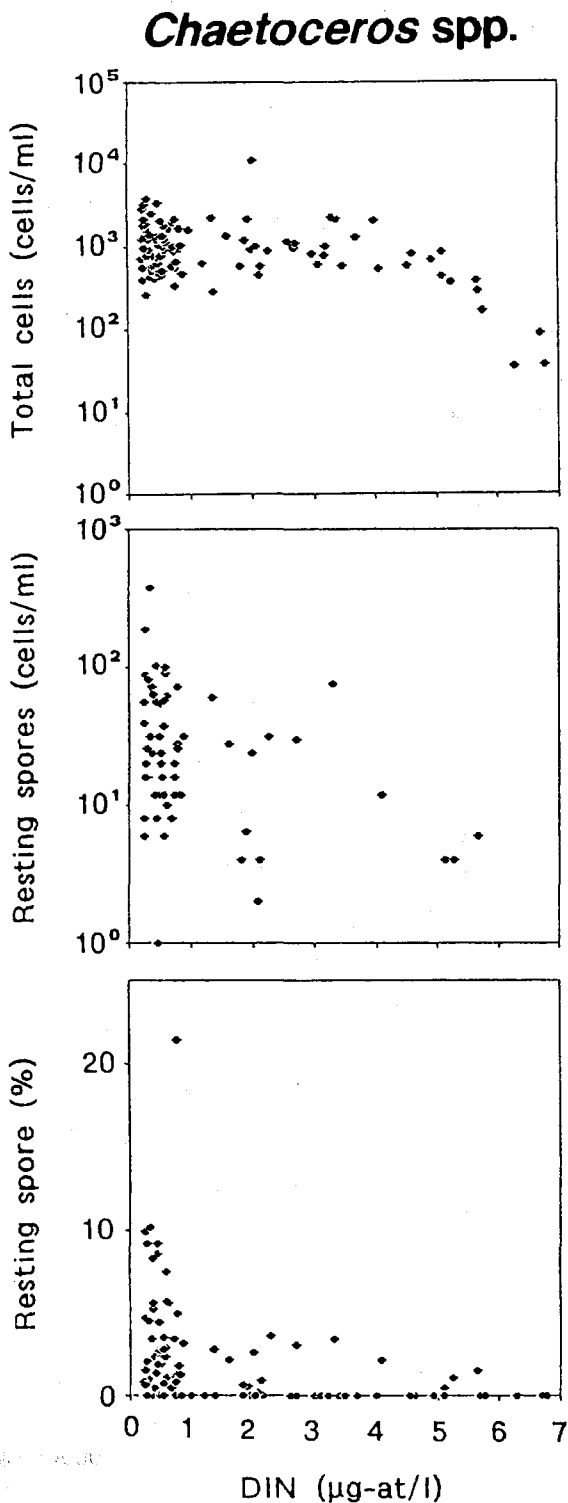


Fig. 2-14. Relationship between ambient DIN concentrations versus total cells (upper), resting spores (middle), and resting spore percentages (bottom) of *Chaetoceros* spp.

の休眠細胞が高頻度で形成されると考えられる。また今回の調査においては、DINの大部分が $\text{NO}_3^-$ -Nで占められていたことから、このような関係が $\text{NO}_3^-$ -N濃度と細胞の割合についても成り立つものと判断される。

$\text{SiO}_2$ -Si濃度と休眠細胞の割合(%)との間の関係を見ると(Fig. 2-15)、各種とも休眠細胞の割合が高くなるのは $\text{SiO}_2$ -Si濃度が約 $10 \mu\text{M}$ 前後の所であったが、DINの場合と比較するとあまり明瞭な関係は認められなかった。前述のGarrison (1981)やKuwata and Takahashi (1990)等の結果と併せて考えると、 $\text{SiO}_2$ -Si濃度は、*Chaetoceros*休眠細胞の形成を引き起こす要因としては、さほど重要でないと推察することができる。

中田(1982)は春季の噴火湾における調査で、珪藻類の増殖のピークの後に底層に多くの*Chaetoceros*の休眠細胞が存在することを明らかにした。しかし本調査では、各測点のB-1 m深の海水試料中において、*Chaetoceros*の休眠細胞はほとんど検出されなかった。これは、今回観察された休眠細胞の大部分が、形成後さほど時間がたっており、底層に沈降する以前のものであったことを示すものであろう。海水中で形成された*Chaetoceros*休眠細胞は、比較的速やかに( $0.04 \sim 10.05 \text{ m} \cdot \text{day}^{-1}$ )沈降するので(Odate and Maita 1990)、今回行ったような調査で休眠細胞の分布状況を把握するためには、調査時期を慎重に選ぶ必要がある。しかし、このような調査のタイミングは非常に難しく、今後現場調査を行う際にはセジメント・トラップ等を用いるのも有効な手段と考えられる。

今回調査を行った播磨灘のうち、特に南部海域では、6~7月頃に*Chaetoceros* spp.が卓越して出現することが知られており、その後(7月以降)の*Chattonella*赤潮の発生・非発生とも深い関わりを持つものと推察されている(大塚ほか1991)。*Chaetoceros*が休眠細胞を形成して沈降を始める時期には、表層水は貧栄養状態にあり、他の植物プランクトンにとっても増殖に不適な環境にあるといえる。もし、その後擾乱がなく、夏季を通してそのままの状態が続けば、珪藻類だけでなく*Chattonella*等による有害な赤潮も発生しにくい状況になるであろう。しかし気象の変化等による擾乱によって、底層に蓄えられた栄養塩が表層にもたらされた場合、そのタイミング(その時の水温条件、珪藻類の存在の有無等)によっては有害赤潮の発生に結びつく可能性が高くなると思われる(今井1990)。このように、沿岸水域におけるプランクトン種交替現象の観点からも、*Chaetoceros*が休眠細胞を形成する時期と栄養環境は重要であるといえよう。

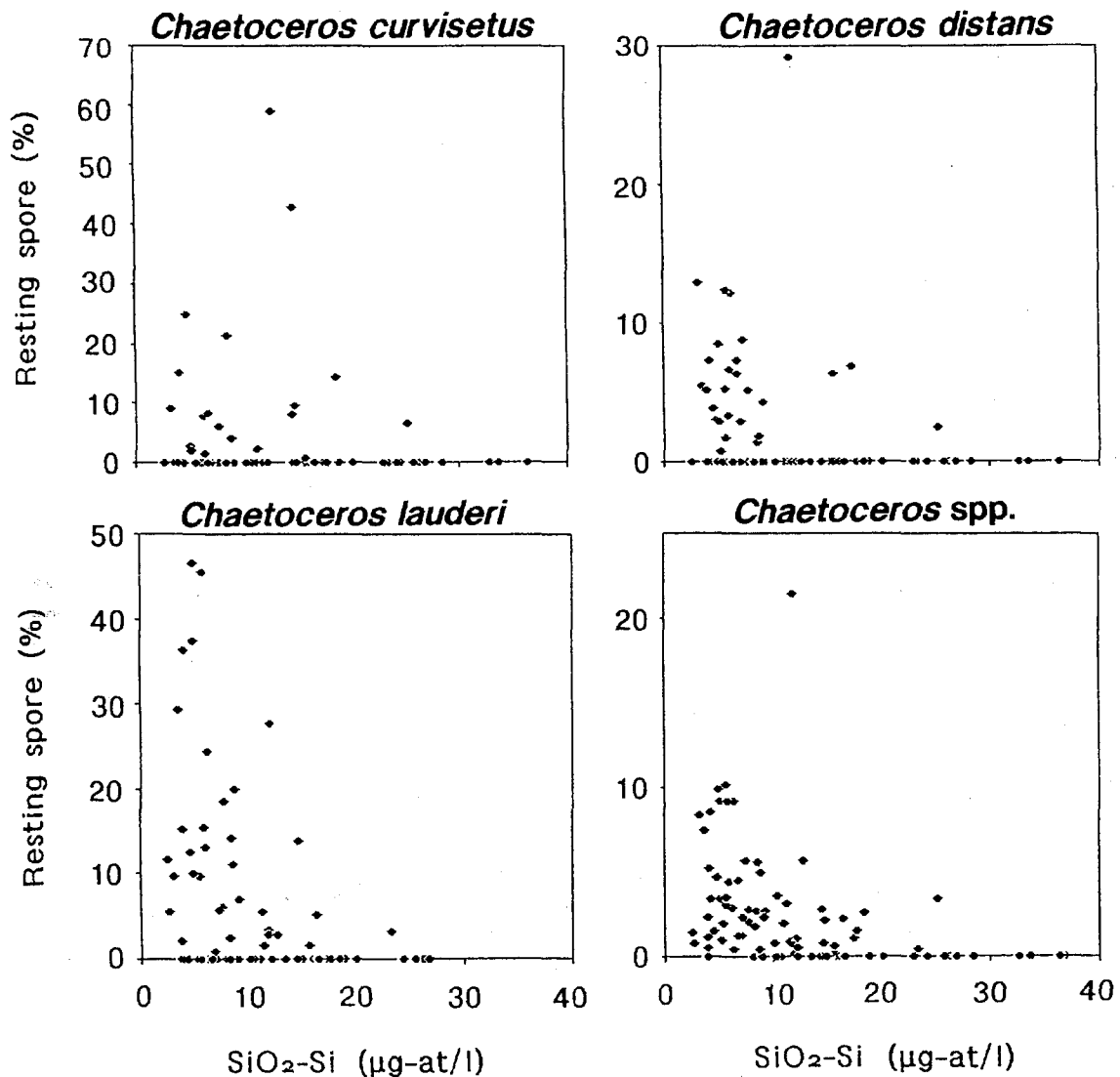


Fig. 2-15. Relationship between ambient  $\text{SiO}_2\text{-Si}$  concentrations versus resting spore percentages of *C. curvisetus*, *C. distans*, *C. lauderi* and *Chaetoceros* spp.

## 第2節 室内培養条件下における *Chaetoceros* 休眠胞子の形成

ここでは、瀬戸内海の広い範囲で観察される浮遊性珪藻類である *Chaetoceros* の休眠胞子形成条件を、室内培養条件下で検討した結果について述べる。

### 材料と方法

実験には、1989年3月に広島湾から分離した *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* (Lauder) Gran and Yendo の無菌クローム培養株を用いた。本種の栄養細胞の特徴は、細胞幅が約  $12\sim 34\ \mu\text{m}$ 、蓋殻面の中央に半球形の隆起があり、末端刺毛が貫殻軸寄りに伸びてU字型を呈し、中間刺毛の交叉点が側線より少し外方にみられること等(高野 1990)である(Plate 2-1)。

休眠胞子形成用の培地として、改変 SWM~3 培地

(伊藤・今井 1987) (P 源として  $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  を  $0.1\ \text{mM}$ 、N 源として  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  を  $2\ \text{mM}$  含む)、P 欠乏培地 ( $\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$  を  $1.25\ \mu\text{M}$  に減じた改変 SWM~3)、N 欠乏培地 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$  を  $25\ \mu\text{M}$  に減じた改変 SWM~3) の3種類を用意した。培養には、それぞれの培地  $4.5\ \text{ml}$  をキャップ付き試験管に分注したものを使用した(2本立て)。前培養には改変 SWM~3 培地を用い、前培養開始後6日目の培養を、各培地に対して約  $1/1,000$  の細胞密度になるように接種した。光条件は、①明暗周期  $14\ \text{hL}\text{-}10\ \text{hD}$  を実験最終日まで与えるもの、②定常期に達するまでは  $14\ \text{hL}\text{-}10\ \text{hD}$  の明暗周期を与えるがそれ以降は連続暗条件下に移すもの、の2種類を設定した。光源は白色蛍光灯(光強度約  $160\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )を用いた。これら3種類の培地と2種類の光条件を組み合わせ、合計6種類の培養実験を行い、実験最終日に休眠

胞子形成の有無を顕微鏡で確認した(実験1)。なお、培養温度はいずれの場合も 22°C である。また、細胞の増殖過程は *in vivo* クロロフィル蛍光を蛍光光度計(model 110, TURNER DESIGNS 社製)で測定(8日目まで毎日と14日目)することによって把握した(山口ら 1991)。

実験1の結果を参考にして、暗条件に移す増殖時期の違いが休眠胞子形成に与える影響について検討するため、以下の実験を行った(実験2)。培地は前述のN欠乏培地を用い(5本立て)、温度 22°C、光強度約 160  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 14 hL-10 hD の条件下で培養した。ただし光条件については、①実験期間を通して明暗周期(14 hL-10 hD)を与えて培養、②対数増殖中期以降は連続暗条件下で培養、③定常期以降は連続暗条件下で培養、の3通りの条件を設定した。それぞれの培養実験において、培養0, 2, 7, 9, 11, 13, 17, 24日目に、蛍光光度計による *in vivo* クロロフィル蛍光の測定を行うと共に、顕微鏡下で休眠胞子数の計数を行い、全細胞数に対する休眠胞子の割合(%)を求めた。

### 結果及び考察

3種類の培地と2種類の光条件の組合せによる6通りの培養実験(実験1)における、*C. didymus* var. *protuberans* の増殖曲線と休眠胞子形成の有無を Fig. 2-16 に示した。培養開始後14日目の顕微鏡観察によると、改変 SWM-3 を用いて実験最終日まで 14 hL-10 hD の明暗周期を与えて培養した場合(Fig. 2-16-A)、ならびに培養8日目(定常期)以降は暗条件下に移した場合(Fig. 2-16-A'), P欠乏培地を用いて実験最終日まで 14 hL-10 hD の明暗周期を与えて培養した場合(Fig. 2-16-B)、ならびに培養8日以後暗条件下に移した場合(Fig. 2-16-B')のいずれにおいても休眠胞子は検出されなかった。一方、N欠乏培地中で培養した場合には休眠胞子が検出され(Fig. 2-16-C, C'), 特に培養8日以後暗条件下に移したものに多くの休眠胞子が観察された(Fig. 2-16-C')。すなわち、本種の休眠胞子を形成させるためにはN欠乏条件が有効であることがわかった。また、暗条件に移した場合により多く休眠細胞が観察されたことから、暗条件も休眠胞子形成に対して大きな影響

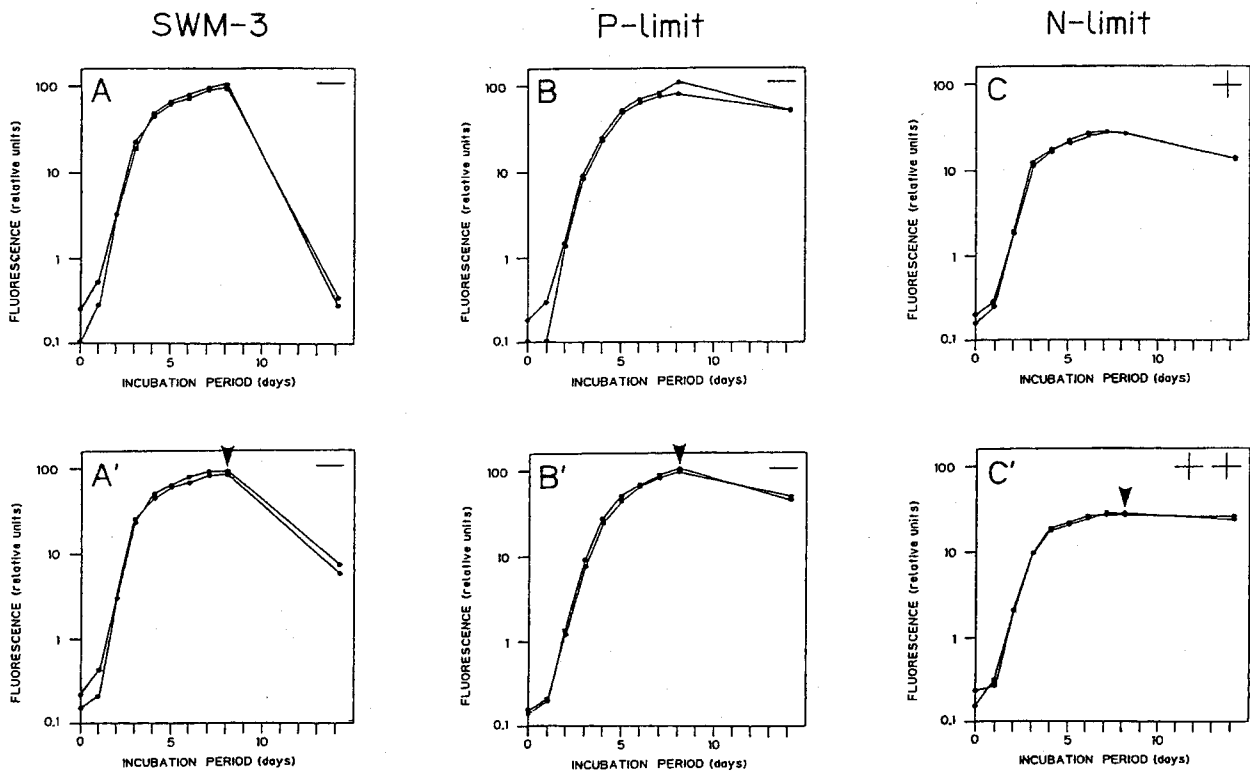


Fig. 2-16. Growth curves of *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* incubated at 22°C in a combination of three different media (SWM-3: A and A', P-limited: B and B', N-limited: C and C') and two light regimes (14 hL-10 hD photoperiod: A, B and C. 14 hL-10 hD for 8 days then transferred to continuous darkness: A', B' and C'). Microscopical observations were made at the end of each experiment.

++: Resting spores were frequently detected.

+: A few spores were detected.

-: No spores were detected.

Arrowheads indicate the onset of dark incubation at 22°C (A', B' and C').

を与える可能性が示唆されたため、さらに検討を行った。

N 欠乏培地を用い、増殖時期の中で暗条件に移す時期を変化させた場合の休眠孢子形成結果(実験2)を、Fig. 2-17 (A~C) に示した。暗条件に移さない場合 (Fig. 2-17-A) には、培養7日目以降に全生細胞数の10%程度の割合で休眠孢子が観察されたが、その後、栄養細胞の死滅とともに休眠孢子も検出されなくなった。一方、対数増殖期(2日目)に暗条件に移した場合 (Fig. 2-17-B)、培養7日目には栄養細胞がほぼ死滅しており、休眠孢子も全く検出されなかった。定常期(7日目)に暗条件に移した場合、その直後から休眠孢子が数多く認められるようになり、暗条件に移してから約10日後には、全生細胞数に対する休眠孢子的割合がほぼ100%になった (Fig. 2-17-C)。つまり、N 欠乏培地で増殖した細胞が定常期に入った時点で暗黒条件に置かれた場合に、休眠孢子形成は活発に起こる、ということがわかった。以

上の実験結果から、本種の休眠孢子形成には栄養条件(N 欠乏) および光条件(暗条件) の組合せが深く関与していることが判明した。

N 欠乏培地で培養した *C. didymus* var. *protuberans* の最大細胞収量は、SWM~3 で培養した場合と比較して減少しており、N が制限要因になっていたことが明かであった (Fig. 2-16)。一方、P 欠乏培地で培養した場合には、最大収量が SWM~3 で培養した場合とほとんど同じであり、P は制限要因になっていなかった可能性がある。従って、今回の実験結果から休眠孢子的形成に及ぼす P 欠乏の影響を評価するには問題が生じる結果となった。しかし、少なくとも N 欠乏条件が休眠孢子形成に有効であることは明かである。

珪藻類の休眠孢子形成条件に関する知見は、これまでもいくつか報告があるが (Stosch and Drebes 1964, Stosch *et al.* 1973, Durbin 1978, Davis *et al.* 1980,

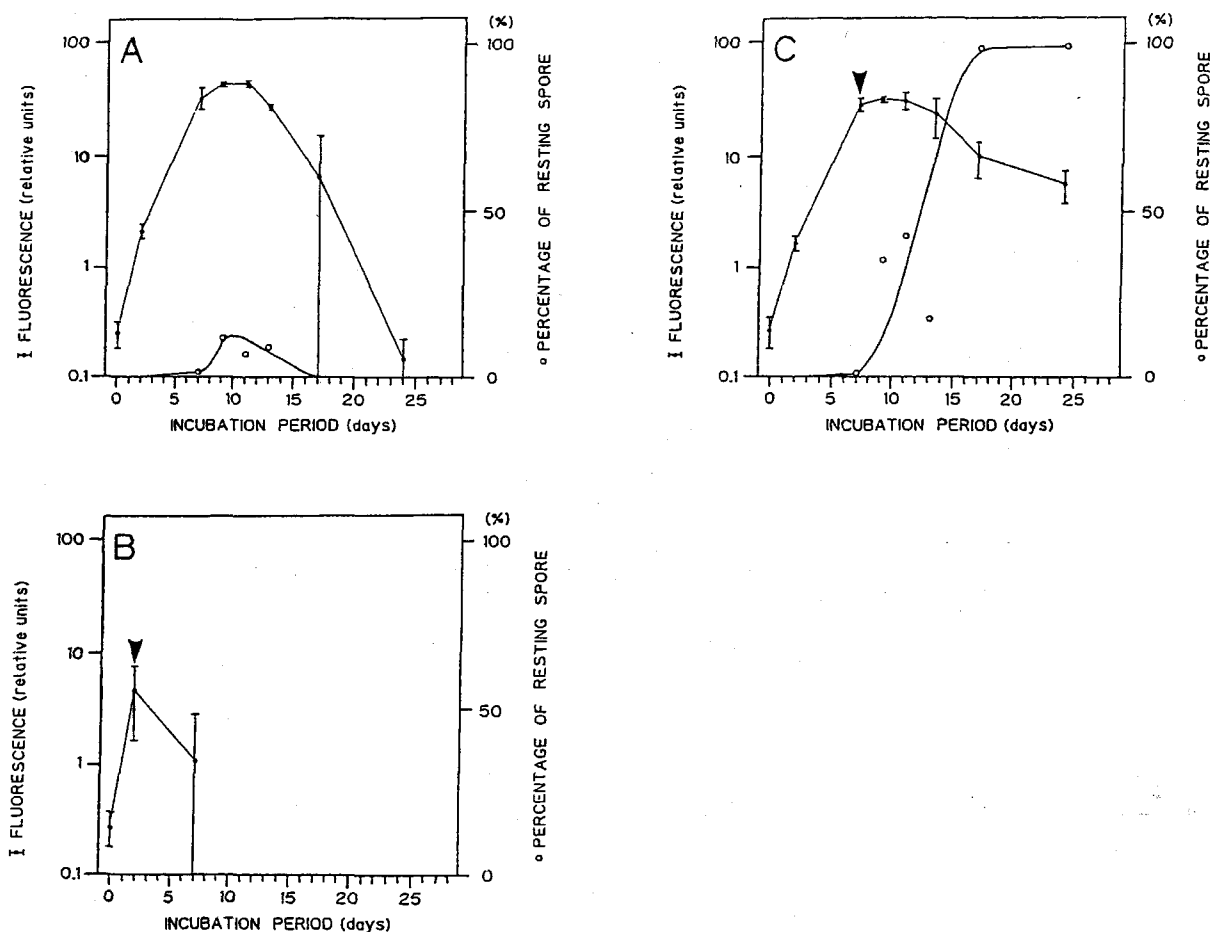


Fig. 2-17. Growth curves of *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* incubated ( $22^{\circ}\text{C}$ ,  $160 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) in N-limited medium (●), and changes in the percentage of resting spores to tal cells (○). Bars, standard deviations.

A: Incubated under a photocycle of 14 hL-10 hD throughout the experiment.

B: Transferred to continuous darkness ( $22^{\circ}\text{C}$ ) on the 2<sup>nd</sup> day of the experiment.

C: Transferred to the dark ( $22^{\circ}\text{C}$ ) on the 7<sup>th</sup> day of the experiment.

Arrowheads indicate the onset of dark incubation at  $22^{\circ}\text{C}$ .

French and Hargraves 1980, Garrison 1981, Hollibough *et al.* 1981, Kuwata and Takahashi 1990), Hargraves and French (1983) は、そのような知見をまとめた結果、温度、栄養、光条件、pH の環境条件のなかで、N 欠乏が休眠孢子形成に最も有効であると述べている。一方で、これらの結果は培養液に含まれる過剰な窒素が休眠孢子的形成を阻害することを示しているにすぎない、とする考え方もある (中原・左子 1987)。

N 欠乏の培養を培養 2 日目 (対数増殖期) に暗条件に移したところ、細胞の死滅が起こった (Fig. 2-17-B)。おそらく培養 2 日目の時点では、ほとんどすべての細胞がまだ休眠孢子形成に至っておらず、通常の栄養細胞の状態であったと考えられる。そのため、暗条件下に移されたことにより細胞が死滅していったものと判断された。また、Fig. 2-17-A, C から、培養 7 日目を以降に休眠孢子が検出され始めたことがわかる。これは、培養 2 日目から 7 日目の間に N 欠乏状態が起こり、それが休眠孢子形成の引き金となったことを示唆するものであろう。暗条件下に移さない場合には、いったん形成された休眠孢子がその後減少した (Fig. 2-17-A)。この理由として、一度形成された休眠孢子が発芽した後に発芽細胞が死滅したという可能性も考えられる。一方で、休眠期間を終えていない (発芽能力を持たない) 休眠孢子が、発芽に好適な条件に置かれたことよって死亡してしまったという可能性も想定できる。実際に、珪藻類の休眠期細胞が数日～1 週間程度の休眠期間を持つことについては、*Chaetoceros* 属、*Leptocylindrus* 属等において示唆されている (Hargraves and French 1983)。現時点で暗条件が珪藻類の休眠期細胞の生理に与える影響については明かではないが、休眠期細胞が発芽能力を獲得するために短期間の暗黒条件を必要とする可能性は充分考えられる。珪藻類の休眠期細胞のうち特に休眠孢子は、栄養細胞よりも厚い珪酸質の殻を持つため、比重が大きく形成後はすみやかに沈降すると報告されている (Hargraves and French 1983, Garrison 1984)。現場においても、珪藻のブルーム後、底層に多くの休眠孢子が観察された例がみられる (中田 1982, Garrison 1984, Pitcher 1986, Odate 1987)。これらの現象は、栄養細胞の状態では生存することが困難な高温・高照度・貧栄養の表層水からの逃避という観点から、適応的意義について考察がなされているが (Hargraves and French 1983, Smetacek 1985)、もし暗条件を発芽能力の獲得のために必要と考えれば、すみやかに低照度の海底に沈降することは、休眠孢子的成熟のためにも好都合であろう。

一般に珪藻類の出現は、水塊の擾乱と深く関わっていることが指摘されている (Margaref *et al.* 1979, Holligan 1985, Pitcher 1990)。すなわち、高擾乱、高栄養の環境下では珪藻類が卓越するという。そして、珪藻類が消失

するのは水塊が安定、成層化して表層水の低栄養化が起こったときであるとされている。以上のような環境の変化は、珪藻類の休眠期細胞の挙動にどのような影響を与えるのであろうか。水塊の擾乱は、海底に数多く存在する珪藻類の休眠期細胞の一部を巻き上げ、発芽を起こさせるであろう。また、成層化後の表層水の低栄養化により、休眠期細胞の形成が促され、海底へと休眠期細胞が補給されることが容易に推測される。このように、沿岸や内湾域において顕著な消長を繰り返す珪藻類の個体群動態を考える上で、外圍の環境変化に応じた珪藻類休眠期細胞の挙動が重要な役割を演じているものと判断できる。

### 第 3 節 室内培養条件下における *Skeletonema* 休眠細胞の形成

ここでは、大阪湾や広島湾等の内湾域において顕著に出現が観察される浮遊珪藻類である *Skeletonema costatum* の休眠細胞形成条件を室内培養条件下で検討した結果について述べる。

#### 材料と方法

光強度の影響 まず最初に、光強度の違いが *S. costatum* の栄養細胞の増殖に与える影響を把握するため、広島湾から分離された *S. costatum* クローン株を用い、温度 22°C、明暗周期 14 hL-10 hD の条件下で、改変 SWM-3 培地 (伊藤・今井 1987) による培養を行った。設定した光強度は、白色蛍光灯 ( $70.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) と ND フィルターを用いて設定した  $9.4, 6.2, 3.8, 3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の、合計 5 種類である。*S. costatum* の増殖は、蛍光光度計 (model 110, TURNER DESIGNS 社) を用い *in vivo* クロロフィル蛍光を毎日測定することによって把握した。

続いて、光強度が休眠細胞形成に与える影響を把握するため、現場水域 (広島湾) で *S. costatum* の栄養細胞が高密度 ( $10^3 \sim 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) で出現した際の海水試料を用いて実験を行った。1991 年 9 月 3 日、*S. costatum* の栄養細胞が約  $4.0 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  の密度で出現した際の試水を、白色蛍光灯下 ( $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、温度 22°C、明暗周期 14 hL-10 hD) で培養した。同時に、 $10.9, 7.1, 3.9, 3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  に光強度を調節 (ND フィルター使用) したものと、暗黒条件 (アルミホイルで遮光したもの) の 5 種類の条件を設定し、合計 6 種類の光条件下で培養を行った。それぞれの条件下での栄養細胞数および休眠細胞数については、顕微鏡下で計数を行った。

さらに、1991 年 9 月 17 日、広島湾で *S. costatum* の栄養細胞が約  $5.4 \times 10^4 \text{ cells} \cdot \text{mL}^{-1}$  の密度で出現した際の海水試料を用い、 $80.6$  および  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の 2

種類の光条件下 (温度22°C, 明暗周期 14 hL-10 hD) で培養を行った。ただし,  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で培養したものの一部については, 培養開始後2日目以降,  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  の条件と暗条件の2種類の光条件に移した。これら (合計4種類) の光条件下での栄養細胞数および休眠細胞数について, 顕微鏡下で計数を行った。

**栄養塩濃度の影響** 栄養塩濃度, 特に窒素 ( $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ) と磷 ( $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ ) の濃度が休眠細胞形成に与える影響を把握するため培養実験を行った。培養液として, 1991年10月15日に広島湾から採取した海水をグラスファイバーフィルターで濾過したもの (無添加), その濾過海水に  $\text{NO}_3^- \text{-N}$  を約  $100 \mu\text{M}$  の濃度で添加したもの (N 添加), および  $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$  を約  $10 \mu\text{M}$  の濃度で添加したもの (P 添加) の3種類を用意した。なお, 無添加の濾過海水中の栄養塩濃度は,  $\text{NO}_3^- \text{-N}$ :  $10.5 \mu\text{M}$ ,  $\text{NO}_2^- \text{-N}$ :  $0.28 \mu\text{M}$ ,  $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ :  $2.37 \mu\text{M}$ ,  $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ :  $1.02 \mu\text{M}$ ,  $\text{SiO}_2 \text{-Si}$ :  $28.3$

$\mu\text{M}$  であった。3種類の培地によるそれぞれの培養 (温度 22°C, 明暗周期 14 hL-10 hD, 光強度  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) について, 培養開始当日 (0日目) から毎日, その一部を暗条件下に移して休眠細胞形成の有無を把握した。実験には, 広島湾の海底泥を培養した結果得られた *S. costatum* 栄養細胞を用いた。また培養液中の栄養塩濃度は, 栄養塩自動分析装置 (TrAAcs 800, Bran+Luebbe 社) によって測定した。

なお本研究では, *S. costatum* の栄養細胞と休眠細胞を識別するために, 2つの形態的特徴を判断基準とした。すなわち, 1)細胞が扁平に近い形で細胞対 (または4細胞で1組) を形成している, 2)細胞中に濃褐色の凝集体がみられる, の2点が共にみられるものを休眠細胞と判断した。

#### 結果および考察

光強度の影響 Fig. 2-18 に各光強度における *S. costatum*

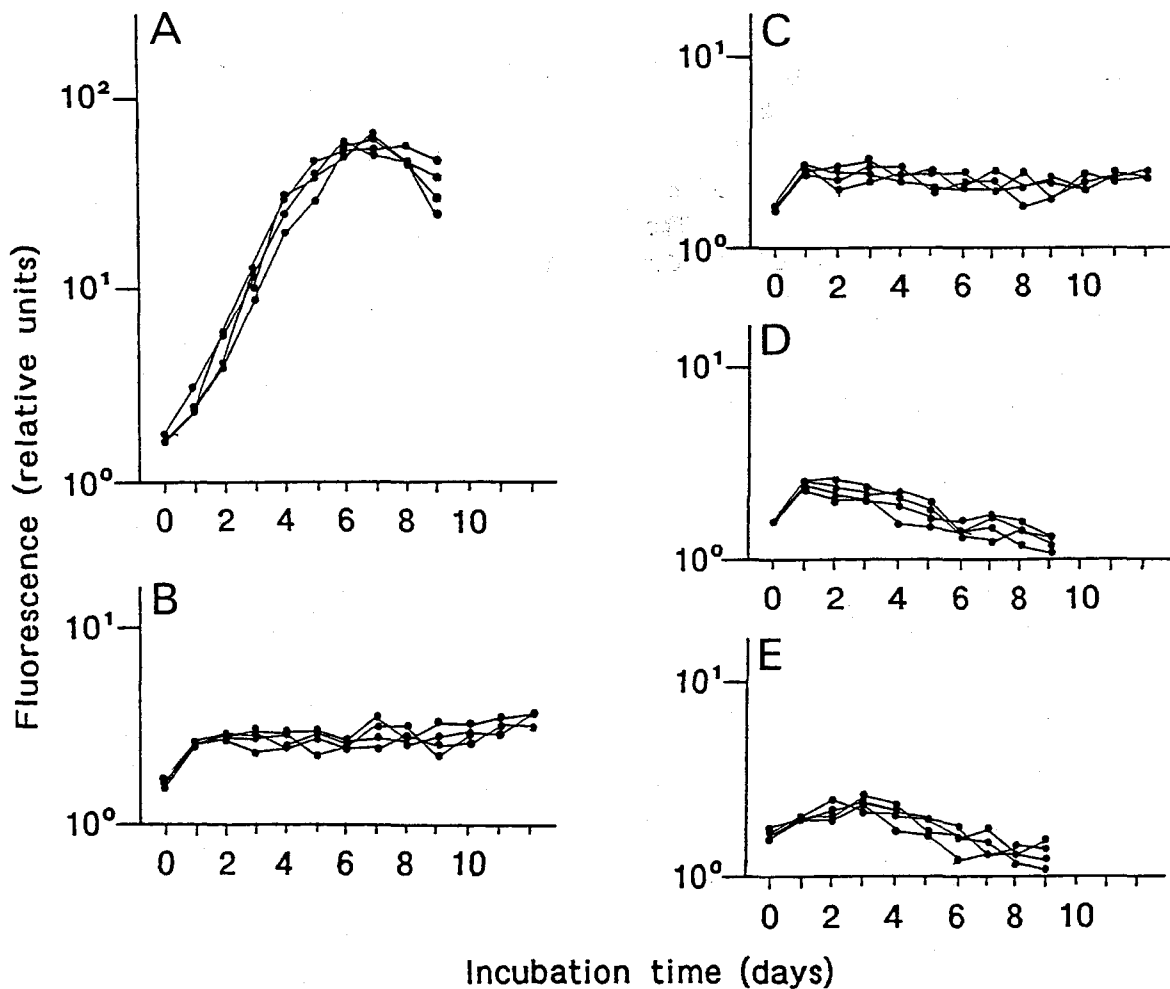


Fig. 2-18. Growth curves of *Skeletonema costatum* incubated under five different light intensities (22°C, 14 hL-10 hD).  
 A:  $70.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  B:  $9.4 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  C:  $6.2 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$   
 D:  $3.8 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  E:  $3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$

栄養細胞の増殖曲線を示す。設定した5種類の光強度による培養実験の結果から、 $9.4 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下の光強度では *S. costatum* 栄養細胞の増殖がほとんど観察されないことがわかった。

6種類の光強度で行った休眠細胞形成実験の結果を Fig. 2-19 に示す。現場から採取した *S. costatum* を光強度  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  で培養した場合には、培養期間中に休眠細胞は観察されなかった。一方で、 $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下の光で培養した場合には、いずれの場合にも休眠細胞が形成されることが明らかになった。

さらに、Fig. 2-20 に示した実験の結果から、培養途中(2日目)で光強度  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、および暗条

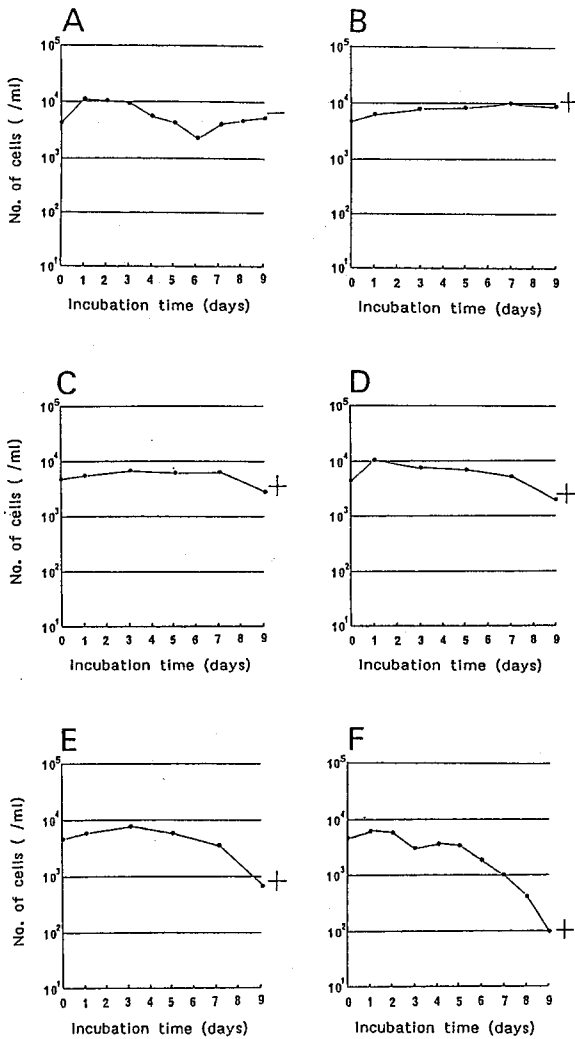


Fig. 2-19. Growth curves of *Skeletonema costatum* incubated under six different light intensities ( $22^{\circ}\text{C}$ , 14 hL-10 hD).

A:  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  B:  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$   
 C:  $7.1 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  D:  $3.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$   
 E:  $3.5 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  F: Dark  
 +: Resting cells were detected.  
 -: Resting cells were not detected.

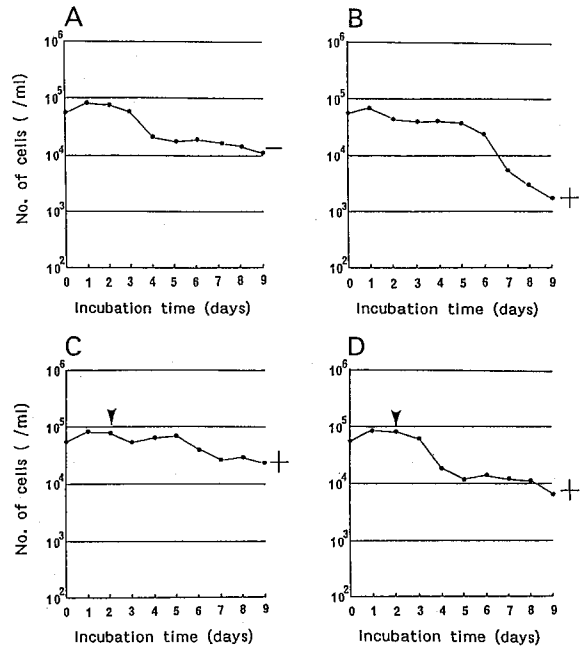


Fig. 2-20. Growth curves of *Skeletonema costatum* incubated under four different light intensities ( $22^{\circ}\text{C}$ , 14 hL-10 hD). Arrowheads indicate timing of light intensity change.

A:  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  B:  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$   
 C:  $80.6 \rightarrow 10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$   
 D:  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1} \rightarrow \text{Dark}$   
 +: Resting cells were detected.  
 -: Resting cells were not detected.

件に移した場合においても、光強度  $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  から  $10.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  および暗条件に移した後に休眠細胞が形成されることがわかった。この実験においても、 $80.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ の光強度で継続的に培養した場合のみ、休眠細胞形成が認められなかった。

以上のことから、*S. costatum* は、栄養細胞の状態ではほとんど増殖のできないような光強度(本実験では約  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 以下の光強度)におかれた場合に休眠細胞を形成し、栄養細胞が活発に増殖できるような光強度下(=約  $80 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )では休眠細胞を形成しないものと判断された。

栄養塩濃度の影響 3種類の栄養塩濃度で実験を行った結果、培養開始後2日目までに暗条件に移したものは、いずれの場合も休眠細胞が形成されていた(Fig. 2-21)。3日目に暗条件に移したものについては、無添加とN添加において休眠細胞の形成が認められたが、P添加においては休眠細胞が形成されなかった。また、4日目に暗条件に移したものについては、いずれの場合も休眠細胞は形成されなかった。

培養実験中の各培地における栄養塩濃度( $\text{NO}_3^- \text{-N}$ および $\text{PO}_4^{3-} \text{-P}$ )の変化を Fig. 2-22 に示す。無添加において、 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 濃度は培養0日目には約  $10 \mu\text{M}$ であっ

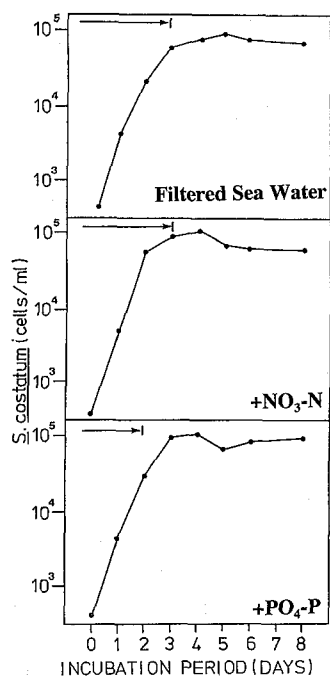


Fig. 2-21. Growth curves of *Skeletonema costatum* incubated under three different nutrient conditions (Filtered sea water, Filtered sea water+NO<sub>3</sub>-N, Filtered sea water+PO<sub>4</sub>-P). Arrows indicate the period in which formation of resting cells have been observed under dark incubation.

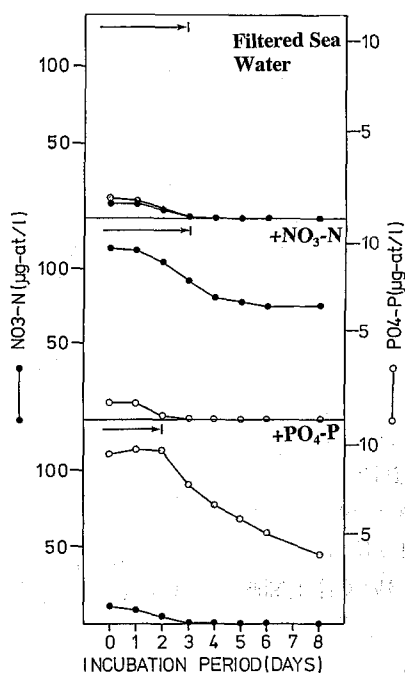


Fig. 2-22. Changes in nutrient concentrations (NO<sub>3</sub>-N, and PO<sub>4</sub>-P) at the experiment showed in Fig. 2-21. Arrows indicate the period in which formation of resting cells have been observed under dark incubation.

たが、培養3日目には約  $0.7 \mu\text{M}$  に減少していた。PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 濃度は、培養0日目に約  $1 \mu\text{M}$  であったものが、培養3日目には約  $0.06 \mu\text{M}$  に減少していた。すなわち、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N および PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P の濃度は培養3日目にはほとんど0に近い値まで減少していた。N 添加においては、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 濃度は培養0日目には約  $115 \mu\text{M}$  であり、その後減少したものの、培養3日目以降も約  $80 \mu\text{M}$  程度残っていた。PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 濃度は培養0日目に約  $1 \mu\text{M}$  であったものが、培養3日目には約  $0.1 \mu\text{M}$  に減少していた。P 添加においては、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 濃度は培養0日目には約  $10 \mu\text{M}$  であったが、培養3日目には約  $1 \mu\text{M}$  に減少していた。PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 濃度は培養0日目に約  $10 \mu\text{M}$  であり、培養3日目以降も約  $6 \mu\text{M}$  程度残っていた。いずれの培養液においても培養3日目には、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N と PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P のすくなくとも片方の濃度は、ほぼ0に近い値になっていたことがわかる。

以上のような休眠細胞の形成状況と栄養塩濃度の変化との関係から、*S. costatum* の休眠細胞形成においては栄養塩（窒素あるいはリン）の欠乏が引金になるのではなく、逆に、いずれかの栄養塩濃度があまり低くなると休眠細胞が形成されなくなってしまう、という可能性が示唆される。

これまで、光が珪藻類の休眠期細胞形成に与える影響についての知見は少ないが、休眠胞子の場合、暗条件のみによって胞子形成が引き起こされることはないと考えられている (Hargraves and French 1975)。一方、羽状目珪藻類 *Amphora coffaeiformis* の休眠細胞は暗条件によって形成されることが明らかにされており (Anderson 1975)、休眠胞子と休眠細胞ではそれぞれの形成に与える光の影響が異なるものと考えられる。

今回の実験から、*S. costatum* の休眠細胞形成が弱い光強度（少なくとも約  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以下）のもとで誘発されることが明らかになった。光条件は珪藻類休眠期細胞の休眠、発芽と深く結びついている可能性が考えられるため、今後さらに詳しく光強度の影響を調べるとともに、光の質（波長）等についての影響も検討する必要がある。

本実験において、栄養塩濃度（窒素あるいはリン）が低くなると *S. costatum* 休眠細胞が形成されないことが示されたが、これは本章の第1節および第2節で明らかにされた *Chaetoceros* の休眠胞子形成の場合とは異なる。このような違いが生じる理由としては、それぞれの休眠期細胞を形成するための“cost”の違い (Hargraves and French 1983)、それに関連した種による短期・長期の生残期間 (=生残戦略) の違い (Round et al. 1990)、それぞれの種が生息する水域の環境変化の特徴の違い、等が考えられよう。

現場の海底泥中に存在する *S. costatum* 休眠細胞は、



低温暗条件下で3年間程度は生残することが知られているが(今井ほか, 1990), 今回培養実験によって形成された休眠細胞は1ヶ月以内に死滅してしまった。実験で形成された休眠細胞は, 外見的には現場海底泥中に存在する *S. costatum* 休眠細胞と同じ特徴を持っていたが, その健全性(発芽能および低温暗条件下での生残期間)についても検討する必要がある。

### 第3章 浮遊珪藻類休眠期細胞の生残, 休眠と発芽

海水中で形成され, 海底泥中に到達した浮遊珪藻類の休眠期細胞が, その後にシード・ポピュレーションとして機能するためには, 弱光しか届かない海底に於いて生存し続けなければいけない。そして, この生残期間が長いほど, その休眠期細胞はシード・ポピュレーションとしてより長期間機能することができるであろう。珪藻類の休眠期細胞が果たしているシード・ポピュレーションとしての役割が, 長期的(年単位)なものなのか, あるいは短期的(数週間~数カ月)なものなのか, という点についてはこれまでも疑問がなげかけられている(Garrison 1984)が, このような疑問に答えるためには, まず, 現場の海底泥中に含まれる珪藻類休眠期細胞の生残期間を明らかにする必要がある。

また, 休眠期細胞が実際にシード・ポピュレーションとして機能するためには, 内因性休眠(Harper 1977)が解除され, 発芽可能な状態になっていなければならない。ある種の鞭毛藻類においては, シストの持つ内因性休眠期間が数カ月におよび, 発芽が特定の季節にしか起こらないことが知られている(Anderson and Keafer 1987, Imai and Itoh 1987)。さらに, これらの鞭毛藻のシストは, 発芽がある特定の範囲の水温でのみ活発に起こる(Dale 1983, Imai and Itoh 1987), といった発芽条件の特徴も有している。このような鞭毛藻類の場合には, シストの持つ生理的特徴が, それぞれの栄養細胞が特定の季節だけに出現する理由の1つと考えられている。珪藻類休眠期細胞が果たしているシード・ポピュレーションとしての役割を解明するためには, 生残期間や休眠, 発芽といった, 休眠期細胞の生理的特徴についても明らかにする必要がある。

以上のような背景から, 本章では, 現場水域における珪藻類休眠期細胞の果たす役割を明らかにすることを目的として, 休眠期細胞の生残期間, 内因性休眠期間, および発芽条件に関する検討を行った。

#### 第1節 休眠期細胞の生残期間に関する検討

本節では, 海底泥中の珪藻類休眠期細胞の生残期間を明らかにすることを目的として, 現場から採取した海底泥に含まれる珪藻類休眠期細胞の保存実験を行い, これらの細胞の生残期間と, 生残期間に及ぼす水温の影響に

ついて検討した結果を述べる

#### 1. 保存海底泥試料中における珪藻類休眠期細胞の生残期間

本項では, 播磨灘で採取した海底泥を低温暗黒条件下で保存し, その中に含まれる珪藻類休眠期細胞の生存の状況について調べた結果を述べる。

#### 材料と方法

1988年4月, 1989年5月, ならびに1990年5月に, Fig. 3-1 に示した播磨灘の3定点(Sts. 12, 16, 33)においてKK式柱状採泥器を用いて採泥を行い, 1988年4月には表層3cm深までの泥を, その他の時期には表層1cm深までの泥を採取して温度11°Cの暗黒条件下に保存した。それぞれの泥試料について, 採泥から3カ月以内に, 終点希釈法(Imai *et al.* 1984, 今井ほか 1990)によって発芽可能な休眠期細胞数を計数した。その後, 冷暗所(11°C, 暗黒条件)での保存を継続し, 1991年7月に, 再度終点希釈法によって発芽可能な休眠期細胞の計数を行った。

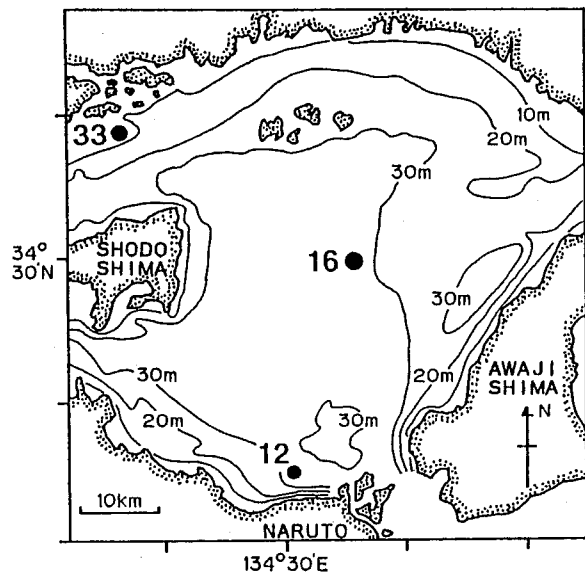


Fig. 3-1. Location of sampling stations in Harima-Nada.

#### 結果及び考察

各海底泥試料中における発芽可能な休眠期細胞数の変化を Fig. 3-2 に示した。採泥後3ヶ月以内に計数された, 発芽可能な珪藻類休眠期細胞数は以下の通りであった。

1988年4月

St. 33

*Skeletonema costatum* =  $7.9 \times 10^4$  (MPN  $g^{-1}$  wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $7.9 \times 10^3$  (MPN  $g^{-1}$  wet sediment)

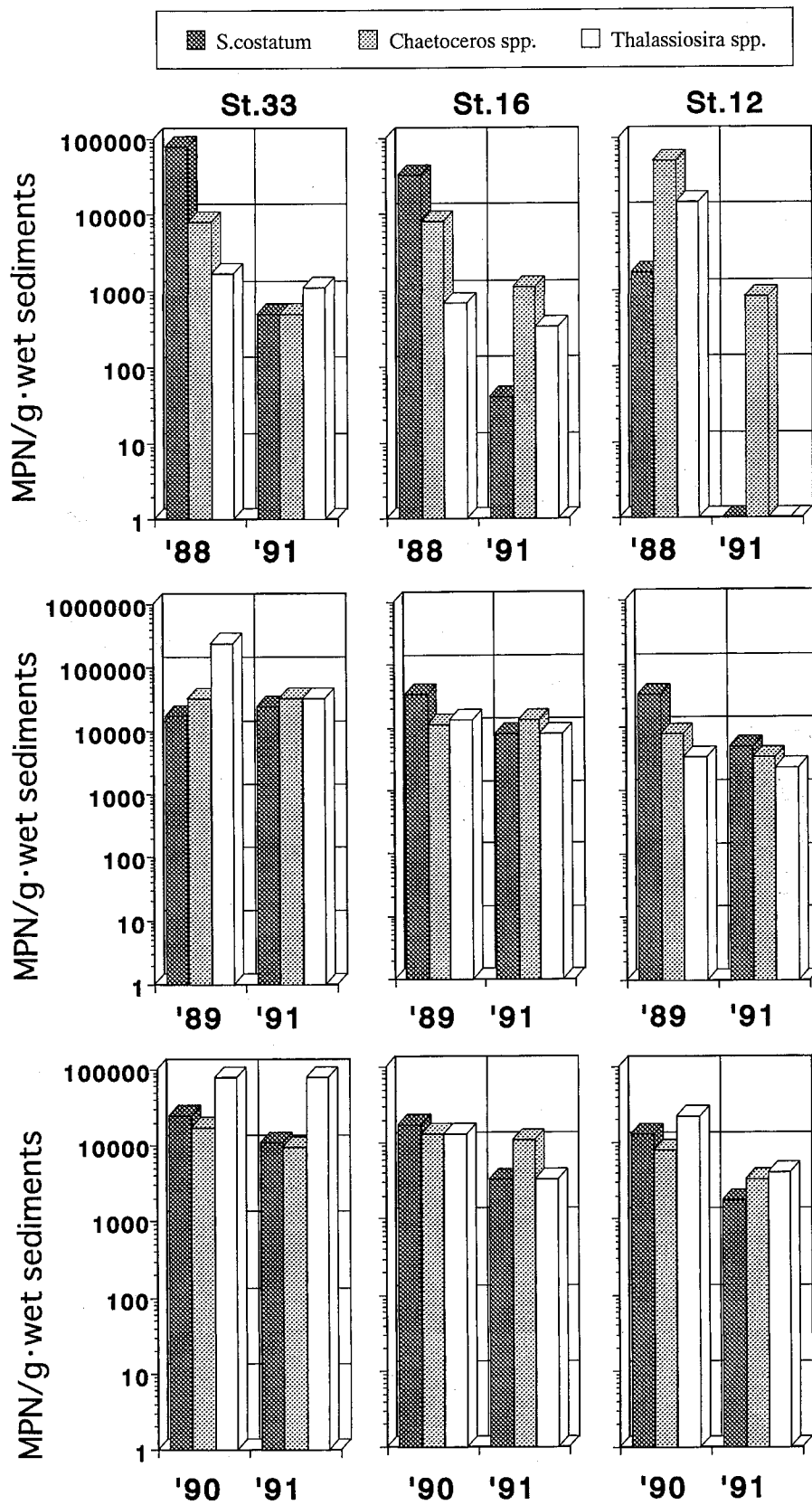


Fig. 3-2. Temporal change of the numbers of viable resting stage cells in sediment samples which stored at 11°C Dark.

*Thalassiosira* spp. =  $1.7 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 16

*S. costatum* =  $3.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $7.9 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $6.8 \times 10^2$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 12

*S. costatum* =  $1.7 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $4.9 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $1.4 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

1989年 5月

St. 33

*S. costatum* =  $1.7 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $3.3 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $2.4 \times 10^5$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 16

*S. costatum* =  $3.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $1.1 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $1.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 12

*S. costatum* =  $3.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $7.9 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $3.3 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

1990年 5月

St. 33

*S. costatum* =  $2.4 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $1.7 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $7.9 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 16

*S. costatum* =  $1.7 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $1.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $1.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

St. 12

*S. costatum* =  $1.3 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Chaetoceros* spp. =  $7.9 \times 10^3$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

*Thalassiosira* spp. =  $2.2 \times 10^4$  (MPN g<sup>-1</sup> wet sediment)

1991年 7月に行った計数値と上述の計数値(採泥直後)を比較すると(Fig. 3-2), 最も長い期間保存された1988年 4月の海底泥試料(3年以上保存)においても,*S. costatum*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp. の3分類群の出現が, 減少はしているものの観察されることがわかった。また, 1988年の海底泥試料においては, 相対的に*S. costatum*の休眠細胞の減少が著しいことが観察された。

1989年 5月(2年以上保存)および1990年 5月(1年以上保存)の海底泥中の珪藻類休眠期細胞は, 同様に上記の3分類群のものが発芽可能な状態で存在しており, しかもさほどの休眠期細胞数の減少は認められなかった。

以上の結果から, 海底泥中に含まれる上記の珪藻類の休眠期細胞は, 冷暗所に保存すれば少なくとも3年間は生存可能であることが明らかになった。Lund (1954)によれば, 淡水産の珪藻 *Melosira italica* の休眠細胞は暗黒条件下で3年間生存するという。また, Umebayashi (1972)は, 家庭用冷蔵庫を用いて5種の珪藻類(この場合は必ずしも休眠期細胞だけではない)を保存し(ドアの開閉によって断続的に室内照明が照射される条件下), *S. costatum*, *Cyclotella nana*, *Chaetoceros calcitrans* が9ヶ月, *Phaeodactylum tricornutum* が25ヶ月, *Nitzschia closterium* が34ヶ月間保存可能であったことを報告している。これらの報告は, 珪藻類休眠期細胞が比較的長い期間(数ヶ月~数年)暗黒条件下で生残する能力を有することを示しており, 現場水域における珪藻類休眠期細胞の長期的な生残の可能性を示唆するものである。

## 2. 生残期間に及ぼす水温の影響

前項で, 珪藻類休眠期細胞が冷暗所(11°C, 暗黒条件)において少なくとも3年間は生存できることが明らかになった。しかし, 現場の海底付近の水温は変動し, 夏季には20°Cを越えることもある。そのため, 現場における休眠期細胞の生残を考える際には, 珪藻類休眠期細胞の生残期間が水温によってどのような影響を受けるかという点を明らかにする必要がある。本項では, 生残期間に及ぼす水温の影響を明らかにすることを目的として, 現場から採取した海底泥試料を種々の温度条件下で保存し, それぞれの条件における珪藻類休眠期細胞の生残期間を調べた結果について述べる。

## 材料と方法

1991年 7月 8日に広島湾の St. 5 (Fig. 3-3)で採取した海底泥試料(表面から1 cm深までのもの)を用いて休眠期細胞の生残期間に与える温度の影響に関する実

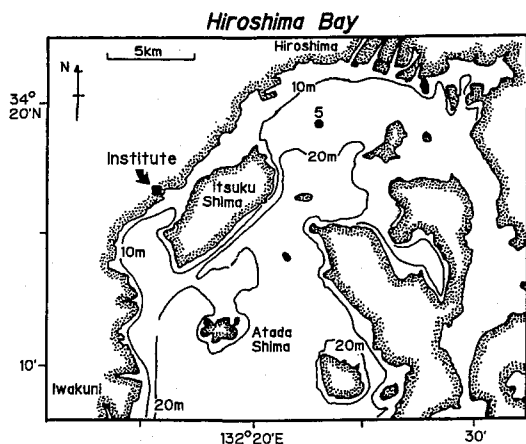


Fig. 3-3. Sampling station in Hiroshima Bay.

験を行った。海底泥試料を採泥から約1ヶ月間11°Cの暗黒条件下に保存した後、試料泥を5等分し、5段階(5, 10, 15, 20, 25°C)の温度条件下に置いた(いずれも暗黒条件下)。各試料中の発芽可能な珪藻類休眠期細胞数を、一定の間隔を置いて終点希釈法で計数した。なお、本実験の定期的な計数作業の際には、各試料泥は室内照明(約 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )の照射(5分以内)を受けている。

データの解析 生残期間についての実験で得られた計数値(発芽可能な休眠期細胞数:MPN)を $\log_{10}(y+1)$ に変換し、各温度条件において得られたそれぞれの回帰直線( $x$ :保存日数, $y$ :対数値に変換した発芽可能な休眠期細胞数)の傾きについて、共分散分析を行った。

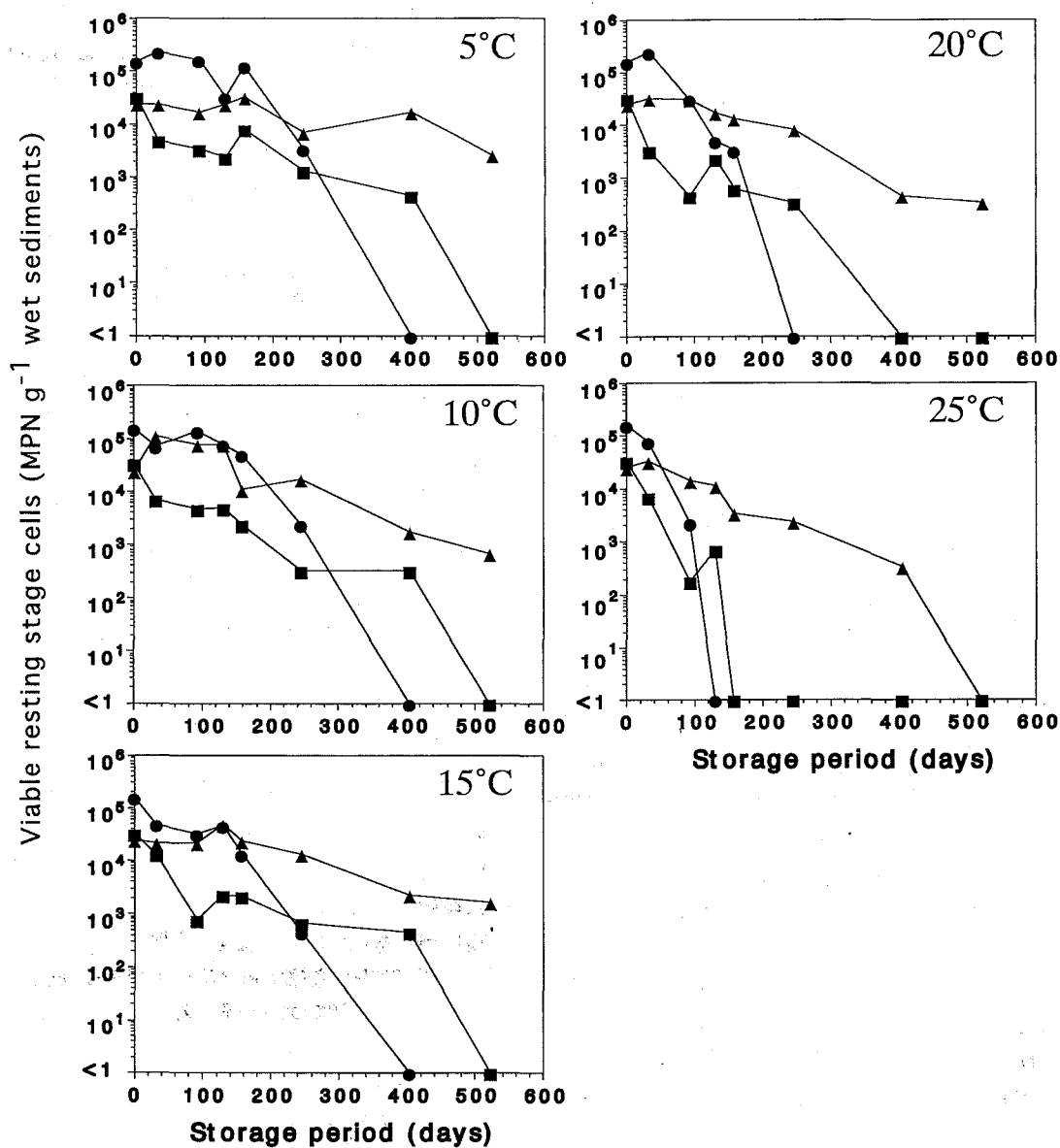


Fig. 3-4. Effects of storage temperature on the dark survival of resting stage cells (● *Skeletonema costatum*; ▲ *Chaetoceros* spp.; ■ *Thalassiosira* spp.).

## 結果及び考察

Fig. 3-4 に、各保存温度における珪藻類休眠期細胞数の時間的変化を示した。なお、保存実験の開始時における各珪藻類休眠期細胞数は以下の通りであった。*Skeletonema costatum*;  $1.6 \times 10^5$  (MPN  $g^{-1}$  wet sediment), *Chaetoceros*;  $2.5 \times 10^4$  (MPN  $g^{-1}$  wet sediment), *Thalassiosira*;  $3.3 \times 10^4$  (MPN  $g^{-1}$  wet sediment)。これらの休眠期細胞はいずれの温度条件下でも数カ月以上生残することが確認され、最も生残期間が短かった場合 (*S. costatum*, 25°C) でも約3ヶ月間は生残可能であることが明らかとなった。

今回の実験において、珪藻類の生残期間に関して2つの傾向が観察された。1つは、いずれの珪藻類休眠期細胞においても、生残期間が温度によって異なっていた点である。すなわち、どの休眠期細胞においても、温度が低いほど長い間生残する傾向が観察された。各休眠期細胞の生残細胞数の回帰直線の傾きを比較した結果、*Skeletonema* ( $F=2.06$ ;  $df=4, 16$ ;  $p>0.05$ ) と *Thalassiosira* ( $F=2.03$ ;  $df=4, 21$ ;  $p>0.05$ ) の場合には温度による (5~25°C) 有意な傾きの違いは認められなかったが、*Chaetoceros* ( $F=5.40$ ;  $df=4, 29$ ;  $p<0.01$ ) の場合には温度によって回帰直線の傾きが有意に異なっていた。2つめの傾向は、いずれの温度においても、3つの分類群の珪藻類の生残期間が同じ順番で短く (あるいは長く) なっていた点である。つまり、いずれの保存温度においても *Chaetoceros* spp. の休眠期細胞が最も長い期間生残し、*Thalassiosira* spp. の休眠期細胞がその次で、*Skeletonema costatum* の休眠期細胞は常に最初に検出されなくなる傾向があった。これら3分類群の珪藻類の生残細胞数の回帰直線の傾きは、5°C ( $F=4.19$ ;  $df=2, 15$ ;  $p<0.05$ ), 15°C ( $F=5.37$ ;  $df=2, 15$ ;

$p<0.05$ ), 20°C ( $F=5.13$ ;  $df=2, 13$ ;  $p<0.05$ ) および 25°C ( $F=8.32$ ;  $df=2, 8$ ;  $p<0.05$ ) の温度条件下において、それぞれ有意な差が検出された。

珪藻類の休眠期細胞がそれぞれの栄養細胞と比較して暗黒条件下においてより長い期間生残する能力を持つ、ということをも最初に示したのは、Hargraves and French (1975) であった。Table 3-1 に、暗黒条件下における珪藻類の栄養細胞の生残期間に関する既往知見を整理した (Antia and Cheng 1970, Umebayashi 1972, Smayda and Mitchell-Innes 1974, Hargraves and French 1975, Garrison 1984)。暗黒条件下における栄養細胞の生残期間を、今回の実験から得られた休眠期細胞の生残期間と比較すると、明らかに休眠期細胞の方が長い期間暗黒条件下で生き残ることがわかる。このような暗黒条件下での生残能力は、休眠期細胞が、より長い期間にわたって底層や海底泥中のような光の弱い条件のもとで生残する役割を持つことを示している。

今回の実験において、休眠期細胞の生残期間は水温が低いほど長くなる傾向が観察された。これについては、Hargraves and French (1983) も同様な指摘をしている。このような傾向が見られる理由については明らかではないが、休眠期細胞が、非常に遅い速度ではあるが呼吸をしていること (French and Hargraves 1980) を考えると、温度に依存する生理的な代謝速度と関係しているように思われる。いずれにしても、今回の結果で最も重要な点は、休眠期細胞が 25°C の温度条件においても、少なくとも3ヶ月は生残できたということであろう。これまで、珪藻類の休眠期細胞は高水温下では短期間しか生存できない (例えば、*Thalassiosira nordenskiöldii* と *Detonula confervacea* の休眠期細胞は 20°C の条件下では7日間しか生きられない) という報告や (Durbin

Table 3-1. Dark survival periods (weeks) of vegetative cells (upper column) and resting stage cells (lower column) of planktonic diatoms at various temperatures

|                     | Species                                    | Temperature (°C) |     |     |     |    |
|---------------------|--|------------------|-----|-----|-----|----|
|                     |  | 5                | 10  | 15  | 20  | 25 |
| Vegetative cells    | <i>S. costatum</i> <sup>2,3,4</sup>        | 16               | ND  | 16  | 4   | ND |
|                     | <i>Chaetoceros</i> spp. <sup>2,3</sup>     | 36               | ND  | 13  | 8+  | ND |
|                     | <i>Thalassiosira</i> spp. <sup>1,2,4</sup> | 16               | ND  | 19  | 8+  | ND |
| Resting stage cells | <i>S. costatum</i>                         | 35               | 35  | 35  | 22  | 13 |
|                     | <i>Chaetoceros</i> spp.                    | 74+              | 74+ | 74+ | 74+ | 57 |
|                     | <i>Thalassiosira</i> spp.                  | 57               | 57  | 57  | 35  | 18 |

Note: Data of vegetative cells were compiled from Antia and Chang (1970),<sup>1</sup> Umebayashi (1972),<sup>2</sup> Smayda and Mitchell-Innes (1974),<sup>3</sup> Hargraves and French (1975),<sup>4</sup> which cited by Garrison (1984)

Data of resting stage cells were obtained from the present study (maximum survival periods)

+: survival for maximum duration of experiment

1978), 海底泥中の珪藻類休眠期細胞は夏季には検出されなくなる (Hargraves and French 1975) という報告がなされており, 現場に存在する珪藻類休眠期細胞が夏を越すことができないとする考えがあった。それに対して, 今回得られた結果は, 広島湾における夏季の底層水温 (<25°C) の条件下でも, 休眠期細胞は3カ月間は生残可能であり, 現場においても夏を越えて存在できる可能性を示すものである。

観察された3分類群の珪藻類休眠期細胞において, どの温度においても生残期間の長さは同じ順番となっていた (*Chaetoceros* spp. > *Thalassiosira* spp. > *S. costatum*)。このような分類群の違いによる生残期間の相違の理由は明らかではないが, それぞれの休眠期細胞の形態的な特徴の違いが影響を与えている可能性が推測される。一般的に, 休眠期の細胞は外圍の (不適な) 環境から細胞内容物を守るため, 外界との接触をより少なくするような形態的特徴を有するものと考えられている (Garrison 1984)。珪藻類の場合, このような作用は蓋殻の構造の変化 (より多くの珪酸質の蓄積) によってなされている (Syvertsen 1979, Garrison 1984)。例えば, *Chaetoceros* の休眠期細胞は, 栄養細胞と比較して, 非常に厚い珪酸質の殻を持つので, 細胞内容物と外界との接触はほとんど無いものと考えられる (Hargraves 1979)。一方で, その他の属の休眠期細胞においては (例えば *Thalassiosira*, *Detonula*, *Odontella* や *Stephanopyxis*), 多少珪酸質は厚くなるものの, 休眠期細胞と栄養細胞は似通った形態的特徴を有するので, 細胞内と細胞外との物質のやりとりは *Chaetoceros* の休眠期細胞の場合よりは多くなるものと判断される (Hargraves 1976, Syvertsen 1979, Hoban et al. 1980, Garrison 1984)。さらに休眠期細胞の場合には (例えば *S. costatum* や *Coscinodiscus wailesii*), 栄養細胞との形態的特徴の違いはさらに少ないため (長井ほか 1995), 外部との接触の度合いが高まり, *Chaetoceros* や *Thalassiosira* の休眠期細胞と比較すると, 外圍の環境の影響をさらに受けやすいものと推察される。

## 第2節 内因性休眠期間に関する検討

休眠期細胞が形成されてから発芽可能な状態になるまで, すなわち, 内因性休眠が解除されるまでの期間は, シード・ポピュレーションとして機能できない期間である。休眠期細胞の果たしている役割を考える上で, あるいは現場における休眠期細胞の動態を考える上で, 珪藻類休眠期細胞が有する内因性休眠期間についての情報は不可欠なものであろう。

本節では, 珪藻類休眠期細胞の内因性休眠期間について把握することを目的として, 室内培養条件下で形成された *Chaetoceros* 休眠期細胞と, 現場海水中から分離された *Skeletonema* 休眠期細胞の培養実験を行い, これらの休

眠期細胞の内因性休眠期間について検討した結果を述べる。

## 材料と方法

***Chaetoceros didymus* 休眠期細胞の内因性休眠期間に関する検討** *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* のクローン培養株を用い, 室内培養条件下で休眠期細胞を形成させた。休眠期細胞の形成法については, 本稿第2章の第2節に記した通りである。形成させた休眠期細胞は22°Cの暗黒条件下に保存した。暗黒条件に移してから8日目に21細胞, 13日目に7細胞の休眠期細胞を, それぞれ組織培養用容器 (48穴マルチプレート) に分離し, 発芽の有無を顕微鏡で確認した。なお, 休眠期細胞の培養には改変 SWM~3 培地を用い, 温度 22°C, 光強度約  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 明暗周期 14 hL-10 hD の条件下に静置した。***Skeletonema* 休眠期細胞の内因性休眠期間に関する検討** 1989年10月17日に広島湾の St. 4 (Fig. 3-5) の10 m層の試水から採取した海水中に, 形成直後の *S. costatum* 休眠期細胞と判断される細胞が観察された。この細胞をマイクロピペットで分離して, 改変 SWM~3 培地を用いて培養し, 形態の経時変化を光学顕微鏡下で観察した。培養条件は温度 22°C, 光強度約  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 明暗周期 14 hL-10 hD である。

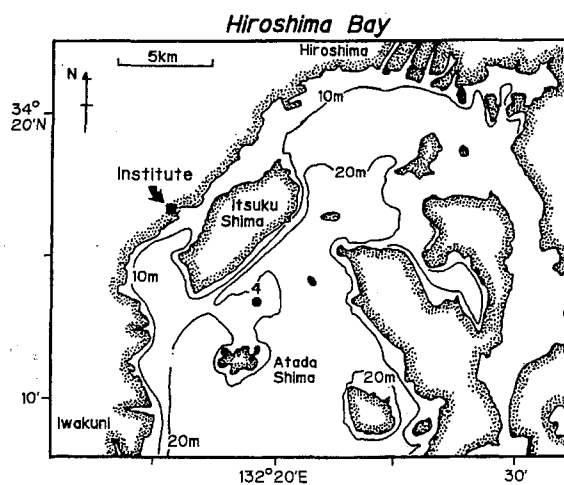


Fig. 3-5. Location of the sampling station in Hiroshima Bay.

## 結果及び考察

***Chaetoceros didymus* 休眠期細胞の内因性休眠期間に関する検討** 人工的に形成させた *C. didymus* の休眠期細胞は, 温度 22°C の暗黒条件下に8日間保存した後に発芽に十分な条件 (温度 22°C, 光強度約  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ , 明暗周期 14 hL-10 hD) に置いても, 分離した21細胞の全てが発芽しなかった。さらに暗黒条件下で休眠期細胞の保存を継続し, 暗黒条件に移してから13日目に休眠期細胞を分離培養したところ, 7細胞中6細胞が発芽した。

以上のことは、本種の休眠胞子が、少なくとも8日間程度の内因性休眠期（発芽に十分な条件に置かれても発芽しない期間）を持つことを示唆している。

今回の発芽実験における *C. didymus* 休眠胞子の形態およびその発芽過程の一例を、Plate 3-1 に示した。*C. didymus* var. *protuberans* の休眠胞子は内生（endogenous）で、1細胞に1個存在し、その表面は平滑である（高野 1990）。初生蓋殻（primary valve）および後生蓋殻（secondary valve）は、それぞれ異なった程度に突出している。また、後生蓋殻の外側に、構造の不明な珪酸質の‘shell’（Plate 3-1-a, 矢印）があるのが特徴である（Rines and Hargraves 1988）。

休眠胞子の培養を開始してから約25時間後には、すでに発芽が始まっていた。すなわち、2細胞の休眠胞子のうち1細胞は、初生および後生の両蓋殻を外しており、栄養細胞の形態的特徴を有していた（Plate 3-1-b, 右側の細胞）。他の1細胞もすでに後生蓋殻を外していたが、初生蓋殻は保持したままであり（Plate 3-1-b, 左側の細胞）、発芽途中にあるものと判断された。しかしその細胞においても、培養開始後約28時間から29時間の間に、初生蓋殻が外され（Plate 3-1-d, 矢印）発芽が完了した。なお、蓋殻を外す際には、細胞質分裂を伴わない有糸分裂（acytokinetic mitosis）（Stosch *et al.* 1973）が起こったものと考えられる。その後培養開始後30時間から31時間にかけて、先に発芽した細胞が最初の分裂を行い、2細胞になっているのが観察された（Plate 3-1-f, 右）。以上から、本種の休眠胞子は、内因性休眠が解除された後、発芽に好適な条件に置かれてから1～2日以内に発芽が完了するものと考えられる。

珪藻類の休眠期細胞が発芽する場合、通常の栄養細胞の細胞分裂と同様な分裂を行い、胞子の蓋殻を群体の両端に保持するもの（Stosch and Drebes 1964）と、細胞質分裂を伴わない核分裂や細胞の不等割分裂によって、胞子の蓋殻を放棄するもの（Stosch *et al.* 1973）の2種が知られている。*C. didymus* の休眠胞子の場合には後者であり、胞子の後生蓋殻と初生蓋殻が順番に外された後に、栄養細胞が出現した。なお、放棄された蓋殻は培養容器の底に沈んだままであったが、出現した栄養細胞は、やや浮上する様子が観察された。

**Skeletonema** 休眠細胞の内因性休眠期間に関する検討 Plate 3-2 に、海水試料中から見出された *S. costatum* 休眠細胞を培養した際の細胞の経時変化を示す。現場の海水試料中から分離した直後の細胞は、底泥中に認められた休眠細胞と同様の特徴（細胞内の暗褐色の凝集体）を持っていた（Plate 3-2, a）。しかし、連結刺部分に付着物が認められないことから、まだ海底に到達していない、形成後あまり時間を経ていない休眠細胞であると判断された。このような細胞を、発芽に好適な条件（温度 22°C、

光強度約  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 14 hL–10 hD）の下で培養したところ、18.5時間経過しても形態の変化や細胞の増大等は観察されず（Plate 3-2, b）、38時間後には殆どの細胞が死亡してしまった（Plate 3-2, c）。Hargraves and French（1983）によれば、*Chaetoceros* 属や *Leptocylindrus* 属の休眠胞子の場合、胞子形成直後に数日間発芽できない期間があり、*Chaetoceros diadema* では3日、*Leptocylindrus danicus* では5～6日間であるという。今回の観察結果から、*S. costatum* 休眠細胞の場合も、形成直後においては、好ましい条件を与えられても発芽も増殖もできない、一定の内因性休眠期間を持つ可能性が示唆された。しかしながら、今回の観察結果からは、*S. costatum* 休眠細胞の内因性休眠期間がどの程度の期間であるかは特定できなかった。

### 第3節 珪藻類休眠期細胞の発芽条件

海底泥中に存在する珪藻類休眠期細胞の発芽を開始させるのはどのような要因であろうか。これまでに、珪藻類の休眠期細胞や鞭毛藻類のシストの発芽要因として、水温（Dale 1983, Imai and Itoh 1987）や光（Hargraves and French 1983, Binder and Anderson 1986）が重要であることが指摘されている。発芽条件は休眠期細胞やシストから発芽してくるそれぞれの栄養細胞の初期個体群の出現時期とも深く結びついていると考えられ、休眠期細胞の動態や生残戦略を考察する上でも非常に重要な要因である。

本節では、珪藻類休眠期細胞の発芽条件を明らかにすることを目的として、珪藻類休眠期細胞の発芽に与える光強度ならびに水温の影響を検討した結果について述べる。

#### 1. 休眠期細胞の発芽に及ぼす光強度の影響

本項では、珪藻類休眠期細胞の発芽に及ぼす光強度の影響を調べることを目的として、大型の室内培養装置（マイクロコズム）に現場から採取した海底泥試料を静置し、2段階の異なる光強度のもとで培養した実験の結果について述べる。

#### 材料と方法

海底泥に照射する光強度の違いが珪藻類休眠期細胞の発芽に与える影響を調べるために、照射する光条件を変えた2基のマイクロコズム（Fig. 3-6, 透明アクリル製水槽、内径 0.2 m、高さ 2 m）の底部に現場海底から採集した泥を置き、培養実験を行った。

片方のマイクロコズム（明条件）には、上層に4本、下層に4本の白色蛍光灯で光を当てた（表層で約  $32 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）。もう一方のマイクロコズム（暗条件）には、上層4本の白色蛍光灯のみで光を当て（表層約  $25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ）、さらに水槽の水面から約 25 cm 深までを残

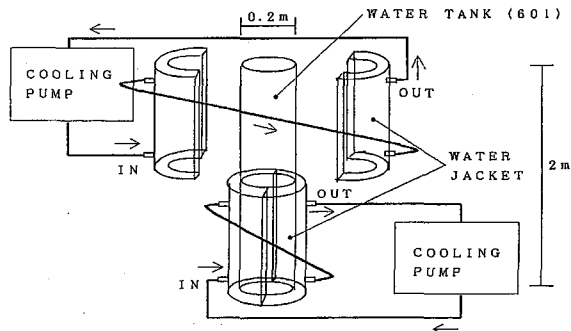


Fig. 3-6. Schematic diagram of the microcosm.

してそれ以下の部分をアルミホイルで遮光した。これにより、各マイクロコズムの底部に置いたそれぞれの試料泥に当たる光強度が異なるようにした（明条件：約  $12 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，暗条件：約  $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ，明暗周期はどちらも 14 hL-10 hD）。

また、マイクロコズム内に水温成層を形成させるため、水槽の上下を囲む透明アクリル製のジャケット（上部2個、下部2個）に、それぞれクーリングポンプで温度を調節した水を流し、水槽内の上下に温度成層（上層  $25^\circ\text{C}$ ，下層  $20^\circ\text{C}$ ）を形成させた。培地には、広島湾から採取した海水をグラスファイバーフィルター（GF/C）で濾過後、オートクレーブ（約5分間）した海水に栄養塩を添加（ $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ :  $20 \mu\text{M}$ ， $\text{PO}_4^{3-} \cdot \text{P}$ :  $1 \mu\text{M}$ ）したものを用いた。

各マイクロコズムの底部には、500 ml のメディウム瓶に入れた試料泥（5 g）を静置して培養した。なお、この試料泥は、約6ヶ月間低温恒温庫（ $11^\circ\text{C}$  の暗黒条件下）で保存した海底泥（播磨灘南部 St. 4 の海底泥：Fig. 3-7）を暗所で分取し、滅菌濾過海水を満した上述のメディウム瓶に入れ、冷暗所（ $11^\circ\text{C}$ ）で12時間以

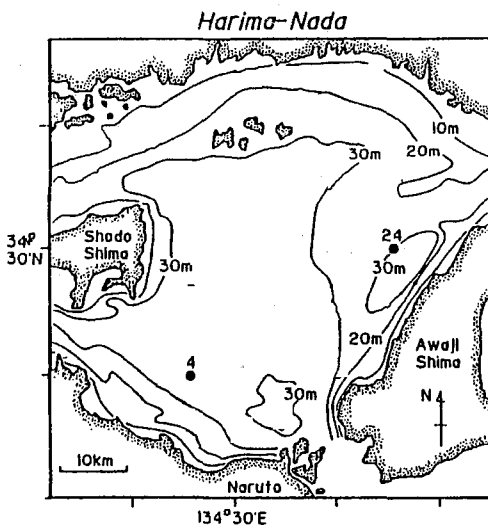


Fig. 3-7. Sampling station of bottom sediments at Harima-Nada.

上静置して泥を完全に沈降させたものである。

培養開始後は、内径 10 mm のシリコンチューブを用いて水槽の水面から 50 cm 深までの海水を柱状採水し（毎日午前10時前後）、出現した植物プランクトンの計数ならびに栄養塩濃度（ $\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ， $\text{NO}_2^- \cdot \text{N}$ ， $\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ ， $\text{PO}_4^{3-} \cdot \text{P}$ ， $\text{SiO}_2 \cdot \text{Si}$ ）測定に供した。

#### 結果および考察

Fig. 3-8 に、各マイクロコズムの水中（表層 50 cm 以浅）に出現してきたプランクトンの密度変化を示した。明条件のマイクロコズムにおいては、培養開始後8日目以降、珪藻類（*Chaetoceros* spp.）が出現し、14日目には約  $6.0 \times 10^3 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  の密度に達した。また、14日目以降には繊毛虫や鞭毛藻類（*Scrippsiella* sp.）も多く出現してきた。

一方、暗条件のマイクロコズムにおいては、8日目以降になって鞭毛藻類が出現しはじめ、20日目には *Scrippsiella* sp.（渦鞭毛藻）が約  $7.0 \times 10^1 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ ，*Pseudopedinella* sp.（黄金色藻）が約  $4.6 \times 10^2 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  の密度になっていた。なお、使用した海底泥中（播磨灘南部 St. 4 の泥）には *Chaetoceros* spp. の休眠胞子が高密度で存在していた（Table 3-2）。現場水域においても、水中に優占して出現する珪藻類と海底泥中に優占して存在する珪藻類休眠期細胞がよく一致することが観察されているが、今回の実験でも水中に *Chaetoceros* spp. が優占してきたことは興味深い結果である。

Fig. 3-9 に各マイクロコズムの水中（表層 50 cm 以浅）における栄養塩濃度の変化を示した。明条件のマイクロコズムにおいては、水中に *Chaetoceros* spp. が優占し始めた9日目以降、各栄養塩が急激に減少していった。それに対して暗条件のマイクロコズムでは、出現プランクトン（鞭毛藻）の密度が低かったためか、表層の栄養塩濃度は殆ど変化していなかった。

今回、温度成層を形成させたマイクロコズムによる培養実験によって、海底泥に約  $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以下の弱光しか当たらない場合には珪藻類が発芽・増殖することができないが、少なくとも  $12 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以上の光を当てれば珪藻類が卓越してくることが明らかになった。今後は、さらに光の波長組成などを検討しながら、珪藻類の出現と光強度の関係について把握する必要がある。

現場水域において実際に光が出現プランクトンにどのような影響を与えているのか、といった問題を明らかにするには、海底に達する光の質（波長）や照射時間などを検討した上で、現場設置型のマイクロコズムやメソコズムを用いて実験をすることが必要であろう。これまでもさまざまな形式のマイクロコズムを用いた実験がおこなわれているが（高橋 1979），現場での汚染物質の研



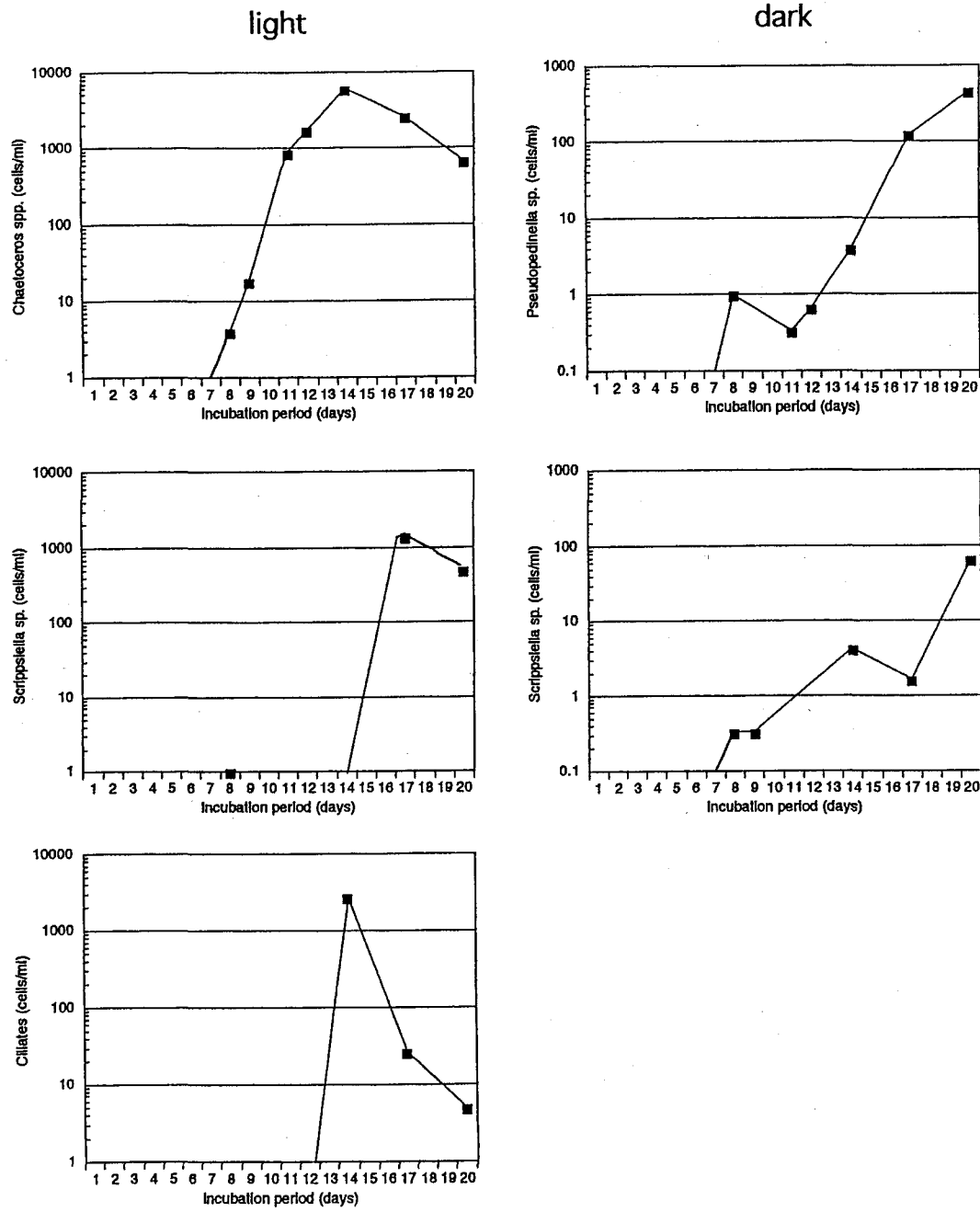


Fig. 3-8. Temporal changes in the number of vegetative cells at surface water of two microcosms (Light: left, Dark: right).

Table 3-2. Viable resting stage cells in the sediment sample from St. 4 (Harima-Nada)

| Area                           | Diatoms                     | Resting stage cells<br>(MPN · g <sup>-1</sup> wet sediments) |
|--------------------------------|-----------------------------|--|
| Harima-Nada<br>(St. 4, 0-1 cm) | <i>Skeletonema costatum</i> | 1.7 × 10 <sup>3</sup>  |
|                                | <i>Chaetoceros</i> spp.     | 7.9 × 10 <sup>4</sup>  |
|                                | <i>Thalassiosira</i> spp.   | 4.9 × 10 <sup>3</sup>  |

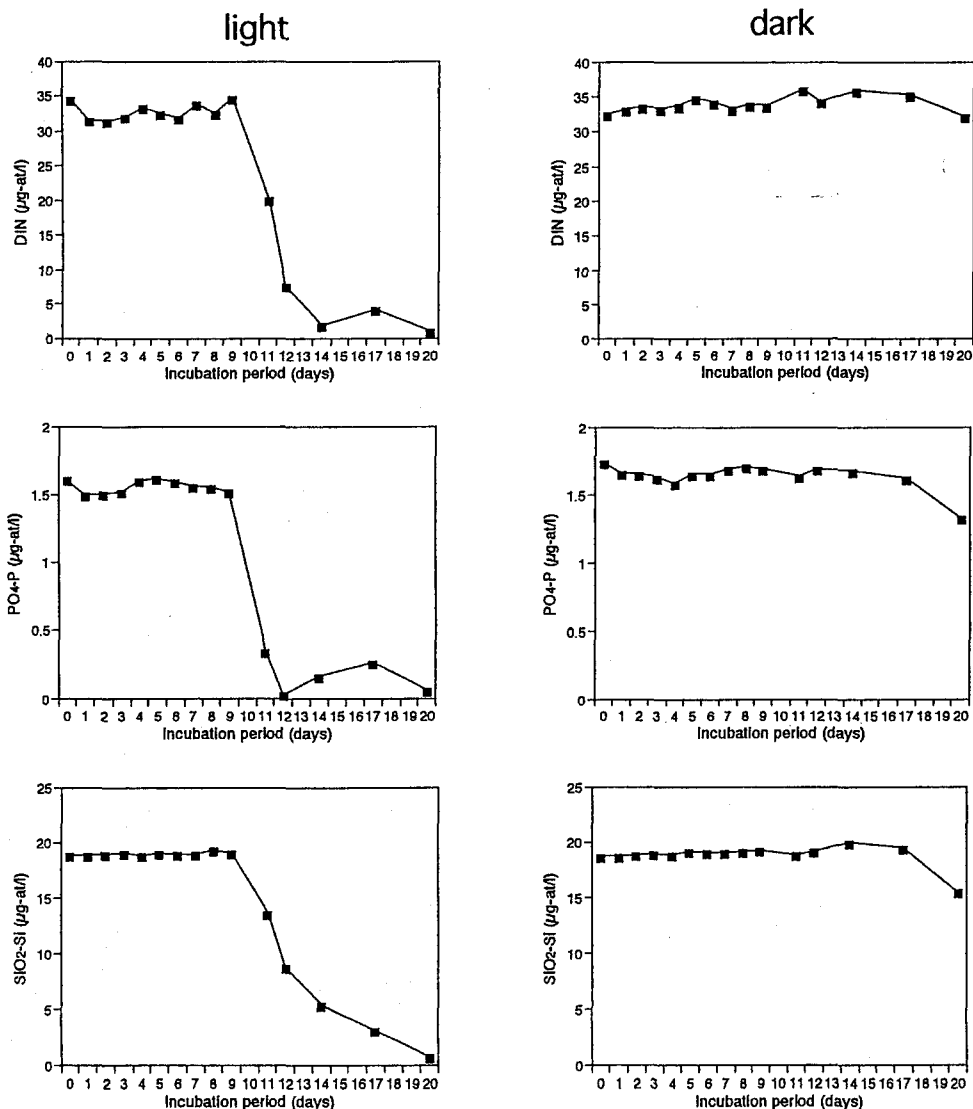


Fig. 3-9. Temporal changes of nutrient concentrations at surface water of two microcosms (Light: left, Dark: right).

究においては、海底泥を含めたマイクロゾムの重要性が指摘されている (Pilson 1978)。しかし、これまでに、海底泥中に存在するさまざまなプランクトンの休眠期細胞の役割に注目したマイクロゾムの実験は殆ど見あたらない。海底泥中に数多く存在する植物プランクトンの休眠期細胞が種交替現象にどのような影響を及ぼすか、ということをはっきりさせるためにも、今後はこのような実験を推し進めていく必要があるだろう。

## 2. 休眠期細胞の発芽に及ぼす水温の影響

休眠期細胞の発芽には、前述の光強度の他に水温も影響するものと推察される。例えば、*Chattonella* や *Alexandrium* 等の鞭毛藻類のシストの発芽は、水温の影響を強く受けていることが報告されている (Dale 1983, Imai and Itoh 1987)。本項では、休眠期細胞の発芽に及ぼす水温の影響を把握することを目的として、年間を通

した種々の温度での発芽実験 (終点希釈法) を行い、休眠期細胞の発芽に及ぼす水温の影響を調べた結果について述べる。

## 材料と方法

1989年10月17日より1990年10月9日までの1年間、原則として毎月1回、広島湾の1測点 (St. 5, Fig. 3-10) において底層水温の測定と採泥を行い、海底泥中 (表面から1 cm 深まで) に存在する珪藻類の休眠期細胞 (*S. costatum*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp. の3分類群) の発芽に及ぼす培養温度 (5, 10, 15, 22, 25°C の6段階) の影響を、終点希釈法によって調べた。すなわち、採取されたそれぞれの海底泥試料について、上述の6段階の培養温度下で、終点希釈法による発芽可能な休眠期細胞数の計数を行い、培養温度によって計数値がど

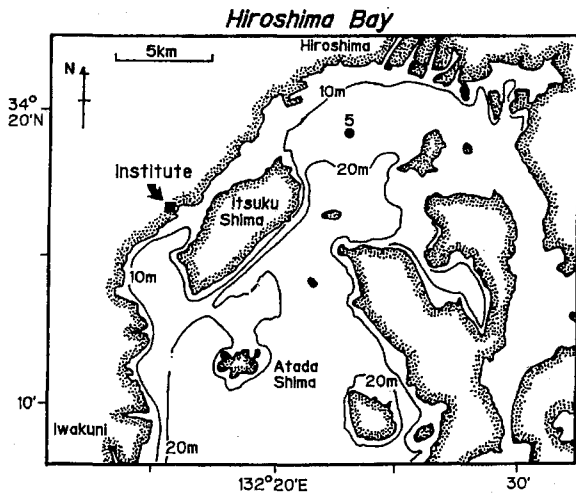


Fig. 3-10. Sampling station of the bottom sediments at Hiroshima Bay.

のように変化をするか調べた。

#### 結果および考察

Fig. 3-11 に、広島湾の St. 5 の海底泥中に存在する珪藻類休眠期細胞 (*S. costatum*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp.) の発芽に及ぼす種々の温度 (5~25°C, 6段階) の影響を、季節的に調べた結果を示す。この結果から、いずれの珪藻類においても、年間を通してすべての温度条件下で発芽が観察されること、また、概ね 15°C 以上の温度で発芽が活発に起こる傾向があることがわかった。広島湾においては、底層の水温が 10°C を下回することはほとんど無いため (Fig. 1-13 参照)、海底泥中に存在するこれらの休眠期細胞は、年間を通して発芽することができると判断される。いいかえれば、今回の結果は、温度 (底層水温) が広島湾の海底泥中の珪藻類休眠期細胞の発芽に対する制限要因になっていないことを示唆するものであろう。

珪藻類休眠期細胞は、本章の第 2 節で明らかになったように、内因性休眠期間が数日~数週間と短い。つまり、直前に大量の休眠期細胞の供給が無い限りは、海底泥中に存在している休眠期細胞の大部分は発芽可能な状態にあると判断される。そして、本節の結果から、これらの休眠期細胞の発芽を制限している要因は水温ではなく、光である可能性が高いことが考えられる。このような休眠期細胞の特徴は、水温によって発芽が制御されている鞭毛藻類のシストの場合とは異なっている。すなわち、珪藻類の休眠期細胞は、季節的な水温変化によって発芽がコントロールされているのではなく、断続的に起こる何らかの要因 (水塊の擾乱による巻き上げ等) によって、休眠期細胞に一定強度以上の光が照射されることをきっかけにして発芽し、その結果として水中に栄養細胞

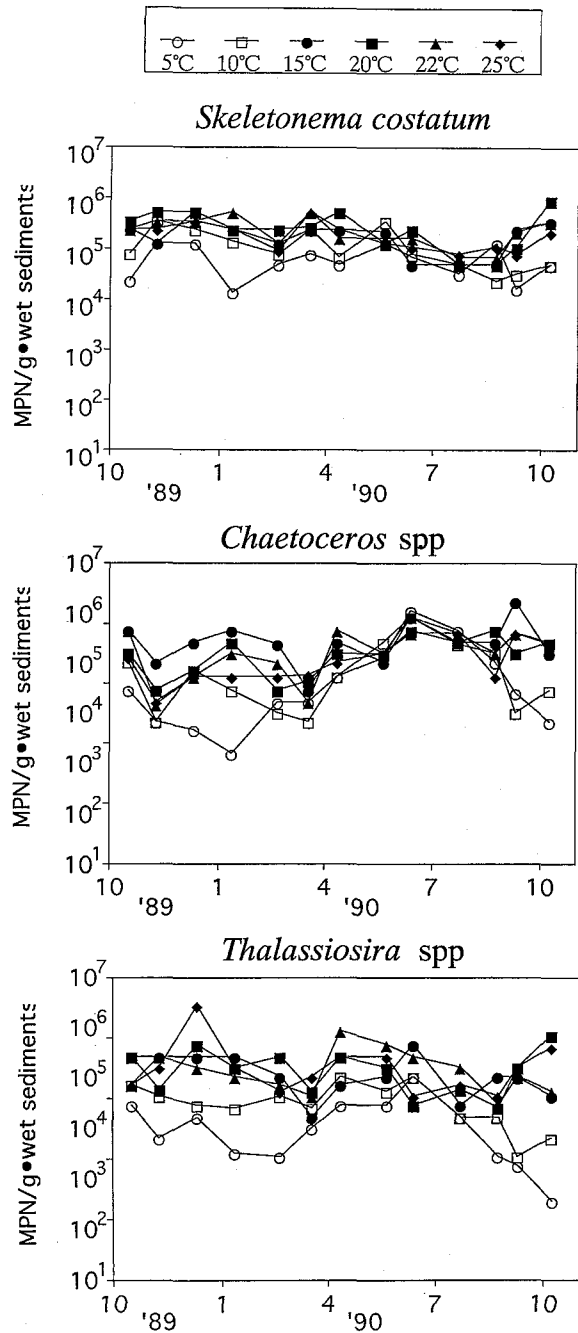


Fig. 3-11. Seasonal changes of the numbers of viable resting stage cells of diatoms, which enumerated by MPN under various temperature conditions.

を供給しているものと推測される。

#### 第 4 章 沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生態学的役割についての考察 (総括)

本研究では、沿岸域において浮遊珪藻類の休眠期細胞が果たしている生態学的役割を明らかにすることを目的として研究を行った。まず、第 1 章において珪藻類休眠期細胞に関する既往知見を整理した結果、沿岸域で珪藻

類休眠期細胞が果たしている生態学的役割を解明する上で最も欠けていたのは、現場水域、特に海底泥中における分布・生残期間や、年間を通じた休眠期細胞の動態等についての情報であったと判断された。そこで、本研究では、第1章において現場に存在する休眠期細胞の形態と分布を明らかにし、第2章では休眠期細胞の形成条件を、そして第3章では休眠期細胞の生残・休眠と発芽に関する検討を行った。以下に本研究で明らかになった結果を要約する。その後、これらの成果を基にして沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生態学的役割についての考察を行う。

①底泥中における休眠期細胞の分布密度とその季節変化培養を基本とした終点希釈法を用いて、底泥中における珪藻類休眠期細胞を計数した結果、瀬戸内海の高密度で休眠期細胞が存在していることが明らかになった。そのなかでも、*Skeletonema costatum*, *Chaetoceros* spp., ならびに *Thalassiosira* spp. の3つの分類群の珪藻類休眠期細胞が特に高密度で存在していた。

広島湾で行った周年調査から、上記3つの分類群の珪藻類休眠期細胞が年間を通して  $10^3 \sim 10^6$  ( $\text{g}^{-1}$  wet sediment) という高い密度で常に存在していること、発芽可能な休眠期細胞数の変化には季節性は認められないこと、が明らかになった。

東部ならびに西部瀬戸内海の高密度で存在していること、これら休眠期細胞の種は水中で優占して出現する種と密接に関係していること、が明らかになった。

初夏の広島湾で *Skeletonema costatum* 休眠期細胞の短期変動を調査したところ、底泥中の休眠期細胞の一部が発芽することで水中への栄養細胞の供給源となっていることが強く示唆された。

②休眠および生残期間 室内培養条件下で形成された *Chaetoceros* 休眠期細胞の発芽実験から、約1週間程度の内因性休眠期間（発芽に十分な条件に置かれても発芽しない期間）があることが示唆された。

現場水域から採取した海底泥を約  $10^\circ\text{C}$  の暗黒条件下で保存し、その中に存在する珪藻類休眠期細胞の生残を調べた結果、休眠期細胞の生残期間は少なくとも約3年であることが明らかになった。

海底泥を  $5 \sim 25^\circ\text{C}$  の温度（5段階）で保存した実験により、保存温度が低いほど休眠期細胞が長期間生残すること、同一の保存条件であれば、*Skeletonema* < *Thalassiosira* < *Chaetoceros* の順に生残期間が長いこと、が判明した。

③環境要因に対する応答（形成・発芽） *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* の休眠期細胞の形成条件を室内

培養条件下で検討した結果、休眠期細胞形成の引き金としては、栄養塩欠乏、特に窒素の欠乏が重要であることを明らかにした。同時に、休眠期細胞の成熟（発芽能の獲得）には暗条件が必要であることが判明した。

夏季の播磨灘において現場調査を実施し、海水中の無機溶存態窒素濃度が  $1 \mu\text{M}$  以下になると *Chaetoceros* の休眠期細胞が形成される割合が高くなることを観察し、現場水域における休眠期細胞の形成に栄養塩（窒素）の欠乏が重要であることを明らかにした。

*S. costatum* の休眠期細胞形成条件を室内培養条件下で検討した結果、*Skeletonema* の休眠期細胞形成には栄養塩欠乏は必要ではなく、暗条件が休眠期細胞形成に必須であることを明らかにした。

海底泥中に存在する珪藻類休眠期細胞 (*S. costatum*, *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp.) の発芽に及ぼす種々の温度 ( $5 \sim 25^\circ\text{C}$ , 6段階) の影響を季節的に調べた結果、いずれの珪藻類においても、年間を通してすべての温度条件下で発芽が観察されることが明らかになった。このことから、水温は珪藻類休眠期細胞の発芽の制限要因とならないことが示唆された。

海底泥試料から分離した珪藻類休眠期細胞の培養実験により、休眠期細胞の発芽が非常に速やかに起こる（概ね培養後1日以内）ことを明らかにした。

マイクロコズムを用いた海底泥培養実験によって、海底泥に照射する光強度が約  $0.25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以下では珪藻類休眠期細胞の発芽・増殖が起きないが、約  $10 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  以上の強度の光を照射することで発芽・増殖が起こることを確認し、発芽に光が重要であることを明らかにした。

つづいて、本研究で得られた上記の結果を基に、浮遊珪藻類休眠期細胞の果たしている生態学的役割について考察する。

沿岸域における浮遊珪藻類休眠期細胞の生態学的役割本研究で得られた結果を総合すると、珪藻類休眠期細胞の有する特徴については以下のようにまとめることができる。

1. 鞭毛藻類など、他の植物プランクトンの休眠期細胞（シスト等）と比較して底泥中の存在密度が高い。
2. 内因性休眠期間が比較的短く、光の照射を引き金として速やかに発芽・増殖を開始する。
3. 比較的広い温度範囲 ( $5 \sim 25^\circ\text{C}$ ) での発芽が可能である。

珪藻類休眠期細胞の持つこれらの特徴は、現場水域になんらかの擾乱が起こった直後にすばやくその場を占有するのに有利な性質であると考えられる。すなわち、潮汐、吹送流、河川からの大量な淡水の流入等によって海水

の擾乱が起こった際には、海底泥中に存在していた休眠期細胞が巻き上げられて光の照射を受ける可能性が高くなる。特に、海底泥中に高密度で存在している珪藻類の休眠期細胞は、他のプランクトンの休眠期細胞と比較して光の照射を受ける細胞数がより多くなることが推察される。さらに、光の照射を受けた珪藻類休眠期細胞は、広い温度範囲で概ね1日以内に発芽を完了することから、擾乱後間もなく初期個体群となる原地性の (autochthonous) 栄養細胞が海水中に供給されるものと考えられる。当然、発芽した細胞が増殖するためには外圍の環境が栄養細胞の増殖に適したものである必要がある。つまり、休眠期細胞から発芽した細胞は、Harper (1977) のいう“環境の篩” (environmental sieve) によってさらなる選別を受けることになる。しかし、一般的に擾乱後の海水中には、底層に存在していた栄養塩が表層にもたらされるなど、比較的少量の栄養塩が存在する 경우가多く、その後の珪藻類栄養細胞の増殖にとっても好適な環境であると考えられる。このような考え方は、珪藻類の出現が海水の擾乱と密接に関係しているというこれまでの一般的な知見 (例えば、Margalef 1987) とも矛盾しない。以上の概念について Fig. 4-1 に示した。

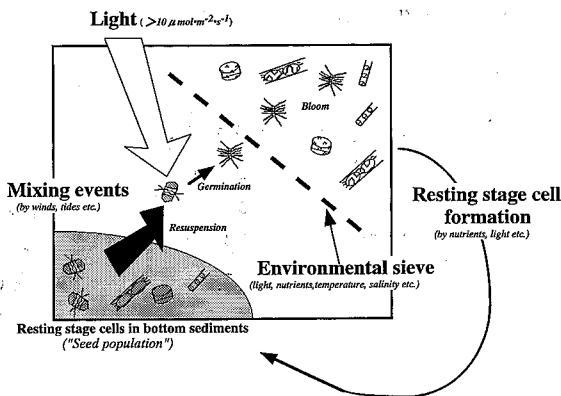


Fig. 4-1. A schematic representation of the role of diatom resting stage cell in the coastal environment.

貝毒や赤潮の原因プランクトンとして知られるある種の鞭毛藻類のシスト (休眠期細胞) も沿岸域の海底泥中に存在していることが知られている。これらの鞭毛藻類のシストに関しては、これまでに精力的に調査・研究が行われ、その生態学的役割についての知見が蓄積されている (例えば、福代 1982, Imai and Itoh 1987, Ishikawa and Taniguchi 1994)。珪藻類休眠期細胞の生態学的役割を理解するためには、これまでに明らかにされた鞭毛藻類のシストの持つ特徴 (分布密度、発芽能力の季節変化等) との比較をすることが参考となるものと考えられる。そこで以下に両者の比較を行いながら、珪藻類休眠期細胞の生態学的役割についての考察をする。

まず、海底泥中の休眠期細胞の分布密度に関しては、鞭毛藻類と珪藻類とは大きな違いがあった。例えば、広島湾の海底泥中における有害鞭毛藻 *Chattonella* spp., *Heterosigma akashiwo* や *Alexandrium* spp. のシストの分布密度 (Imai and Itakura 1991, 今井ほか 1993, 山口ほか 1995) は、珪藻類の休眠期細胞より遥かに低かった (第1章, Table 1-3)。すなわち、広島湾の海底泥中における珪藻類休眠期細胞の密度は、上記の鞭毛藻類のシストの存在密度よりも約  $10^1 \sim 10^4$  倍程度高い。

また、底泥中の発芽可能な休眠期細胞数が季節的に変化するという現象は、シストの休眠と密接に関係している。例えば、*Chattonella* spp. や *A. tamarense* ではシストの発芽能力には明瞭な季節性が観察されており (Wall and Dale 1968, Anderson and Morel 1979, Anderson and Keafer 1987, Yentsch *et al.* 1980, 福代ほか 1982, 遠藤・長田 1984, Imai and Itoh 1987), このような発芽の季節性は、主に、これらのシストが持つ比較的長期間の内因性休眠期間 (dormant period) によるものと考えられている (Anderson and Keafer 1987, Imai and Itoh 1987)。新たに形成されたシストは、たとえ発芽に好適な条件下に置かれても、この内因的な休眠期間中に発芽することはない。一方、本研究において、海底泥中に存在する発芽可能な珪藻類休眠期細胞数の変動には明瞭な季節性は観察されなかった。さらに、これらの休眠期細胞の内因性休眠期間は1週間程度と短く、形成後比較的短期間で発芽可能な状態となることが明らかになった。現場海域では年間を通じて珪藻類の栄養細胞の出現が観察されるが、珪藻類休眠期細胞が有するこのような特徴は、年間を通じた栄養細胞の出現を保証しているものと判断される。

現場における栄養細胞出現の季節性には、内因性休眠期間と同様に休眠期細胞の発芽条件も大きな影響を及ぼしているものと考えられる。例えば、*Chattonella* spp. や *A. tamarense* の場合、シストの有する長期間の内因性休眠期間も栄養細胞出現の季節性に影響を与えていると判断できるが、これらのシストの発芽要因として重要な要因は水温であることが明らかにされている (Anderson and Morel 1979, Anderson 1980, Imai and Itoh 1987)。そして、これらのシストには“temperature window”と呼ばれる、ある一定の水温の範囲があり、その水温の範囲内ではシストの発芽が起こるが、それ以外の水温では発芽が抑制されるとされている (Dale 1983, Imai and Itoh 1987)。このような現象は *Scrippsiella* spp. でも知られており、冬の低水温期にはシストの発芽が抑制されるため、冬季には海水中に栄養細胞が観察されないという (Ishikawa and Taniguchi 1994)。鞭毛藻類のシストが持つこれらの特徴は、栄養細胞の増殖に適した季節のみシストの発芽が起こることを可能にしていると推察

される。つまり、鞭毛藻類の生活史は、繰り返し訪れる季節的な環境変化（特に水温）によく同調しているものと考えられる。

一方、珪藻類の場合、休眠期細胞の発芽が完了するまでの時間は水温の影響を受けると考えられるものの (Hollibaugh *et al.* 1981, McQuoid and Hobson 1995), 発芽に最も重要な要因は、本研究でも明らかになったように光である (Hollibaugh *et al.* 1981, Hargraves and French 1983, Imai *et al.* 1996)。つまり、海底泥中に存在する殆どの珪藻類休眠期細胞は、弱い光強度のため発芽できない外因性の休眠状態 (quiescence) にあるものと考えられる。もし、これらの休眠期細胞が湧昇流などの海水の擾乱によって巻き上げられ、一定以上の光を一定以上の時間照射されることがあれば (Eilertsen *et al.* 1995, Pitcher 1990, Takahashi *et al.* 1977, Roman and Tenore 1978), 休眠期細胞は速やかに発芽し、栄養細胞へと変化していくであろう。このような珪藻類休眠期細胞の特徴は、栄養細胞の間欠的な出現（季節に関わらず）を支えているものと判断できる。

以上に述べたことは、鞭毛藻類と珪藻類の休眠期細胞がそれぞれ異なった生存戦略を選択していることを示唆している。Kilham and Kilham (1980) は、高等生物において用いられている  $r$  選択と  $K$  選択の概念を、植物プランクトンの栄養細胞にあてはめて考察している。彼らによると、珪藻類は  $r$  選択的なグループであるという。つまり、珪藻類は増殖速度が大きいために、1) 資源が豊富で、2) 個体群密度が環境の最大収容力よりも低く、3) 競争的相互作用が最小、であるような環境に適応しているという。また、 $r$  選択種は、変化しやすい不安定な生息場所に適応しており、新たにできた生息場所にすばやく侵入し、他種に先がけて増殖して資源を使い、その場所が悪くなれば移動・分散するなどの能力に優れた、雑草的 (オポチュニスト的) な特徴を有するという。その結果、増殖速度は大きく、早熟で産子数が多く、寿命が短くなる方向へ進化するとされている (巖佐 1981)。本研究で明らかになった休眠期細胞の特徴は (海底泥中の存在密度が高い、自発的休眠期間が短い)、珪藻類が  $r$  選択的なグループであるという考え方を支持するものである。

一方で、鞭毛藻類 (特に渦鞭毛藻類) は  $K$  選択的なグループであると考えられている。なぜなら鞭毛藻類は、栄養素とりこみの  $K_s$  値が低い、鉛直移動能を有する、あるいは多感作用物質を生産する、という点で競争力が強い傾向がある。そのため、1) 資源の供給が需要とつりあっていて、2) 個体群密度が環境の収容力にほぼ等しく、3) 競争的相互作用がより厳しい、ような環境に適応していると判断される。つまり、 $K$  選択種は、安定した永続的な生息場所に適応しているため、高い増殖能力を

もたないかわりに混み合いに対する耐性や競争、限られた資源を効率よく利用する能力、などの点で優れており、競争力の強い子孫を少数生産する、とされている。鞭毛藻類の休眠期細胞 (シスト) は、珪藻類と比べると、海底泥中における存在密度は低く、内因性休眠期間はより長い、といった特徴を持っているが、これもやはり  $K$  選択的な特徴であると判断できる。

もちろん、以上のような  $r$  選択と  $K$  選択の概念はあくまで相対的なものであるため、同じ珪藻、あるいは鞭毛藻のグループの中であっても、 $r$  選択的な種と  $K$  選択的な種に分けることができる (例えば、Fryxell 1991, 1994)。しかしながら、植物プランクトンの種交替現象や生態、あるいは生物学的性質の適応意義を考察する上で、このような考え方は非常に重要であると思われる。本研究によって、珪藻類の休眠期細胞はこれまでに知られている鞭毛藻類のシストとは異なった生態学的特徴を有していることが明らかになった。瀬戸内海などの沿岸・内湾水域においては、通常知られている春と秋の珪藻類のブルームの他にも、初夏から秋の間に比較的短い期間 (数日~2週間程度) のブルームが何度か起こっている (Takahashi *et al.* 1977)。そして、これらの珪藻のブルームの隙間を埋めるように鞭毛藻類が増殖し、結果として貝類の毒化や赤潮の発生に至ることが観察されている。このような植物プランクトンの種交替現象を研究する上で、それぞれの休眠期細胞が有する生態的な特徴 (発芽条件等) の相違を明らかにすることは非常に重要な課題である。なぜなら、休眠期細胞が持つ生態的な特徴は、各々の植物プランクトンの出現・消失の時期のより正確な予測に必要な不可欠な情報となるからである。

我が国の水産業の将来において、沿岸・内湾域における漁業・養殖業は今後さらにその重要性を増していくものと考えられる。その際に必要とされるのは、これらの水域における適正な漁場環境を把握すること、そして、その環境を維持することであろう。浮遊珪藻類は一次生産者として、あるいは貝毒・赤潮現象とも密接な関係を持つことによって、これらの水域の漁場環境に大きな影響を与えている生物群である。すなわち、沿岸・内湾域における重要な一次生産者である浮遊珪藻類の出現動態を解明するために、また、日本沿岸で頻発する貝毒や赤潮の発生を事前に予測するためにも、今後、これらの時期における水域の物理・化学環境の変化を把握するとともに、それに対する珪藻類や鞭毛藻類の (休眠期を含めた) 生理・生態学的応答のメカニズムをさらに定量的に明らかにしていくことが必要である。

## 謝 辞

本稿をまとめるにあたり、懇切なるご指導とご鞭撻を賜った 東京大学アジア生物資源環境センター助教授 福

代康夫先生に深甚なる感謝の意を表しますとともに、本論文のご校閲の労を賜った東京大学教養学部 高橋正征教授、東京大学海洋研究所 川口弘一教授、長崎大学水産学部 松岡敷充教授、東京大学農学部 古谷 研助教授に心から御礼申し上げます。また、終始励ましを戴いた東京大学名誉教授 平野禮次郎博士に衷心から感謝いたします。

本研究の機会を与えていただくとともに、有益なご助言とご協力を賜った 水産庁東北水産研究所 伊藤克彦博士、京都大学 今井一郎助教授、瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部 山口峰生博士、九州大学 本城凡夫教授、北海道大学 池田 勉教授、国際農林水産業研究センター 前田昌調博士、瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部長 玉井恭一博士に深厚なる謝意を表します。

さらに、本研究を遂行するにあたり有益なご助言とご協力を賜った 瀬戸内海区水産研究所 赤潮環境部 長崎慶三博士、松山幸彦研究員、同研究所 瀬戸内海海洋環境部 内田卓志博士、神山孝史博士、中央水産研究所 田中勝久博士、広島県庁 上野雅樹氏に、ここに記して心から御礼申し上げます。

現場調査を実施するにあたり海上作業にご協力いただいた 瀬戸内海区水産研究所調査船「しらふじ丸」の船長並びに乗組員各位、及び調査船「せと」船長の後藤幹夫技官に厚く御礼申し上げます。さらに、研究の遂行に献身的なご協力を戴いた松浦紀子、折本圭子、若園真智子女史に深く感謝いたします。

## 引用文献

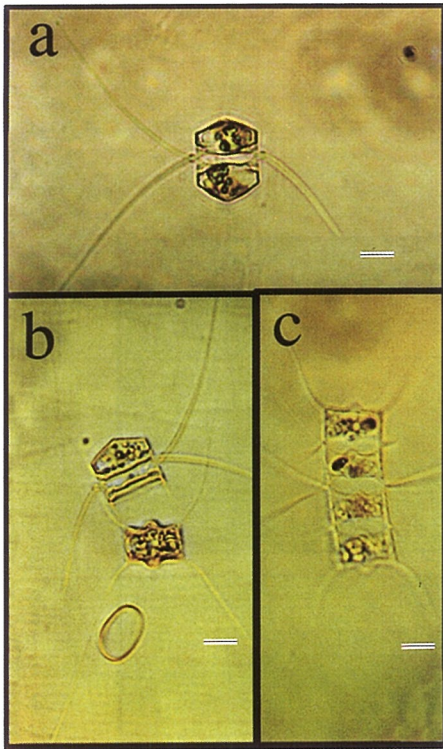
- Anderson, D. M., 1980. Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypnozygotes. *J. Phycol.*, **16**, 166-172.
- Anderson, D. M. and B. A. Keafer, 1987. An endogenous annual clock in the toxic marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *Nature*, **325**, 616-617.
- Anderson, D. M. and F. M. M. Morel, 1979. The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* hypnocysts. *Est. coast. mar. Sci.*, **8**, 279-293.
- Anderson, O. R., 1975. The ultrastructure and cytochemistry of resting cell formation in *Amphora coffaeformis* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, **11**, 272-281.
- Anderson, O. R., 1976. Respiration and photosynthesis during resting cell formation in *Amphora coffaeformis* (Ag.) Kütz. *Limnol. Oceanogr.*, **21**, 452-456.
- Anonymous, 1975. Proposals for a standardization of diatom terminology and diagnoses. *Nova Hedwigia, Beih.*, **53**, 323-354.
- Antia N. J. and J. Y. Chang, 1970. The survival of axenic cultures of marine planktonic algae from prolonged exposure to darkness at 20°C. *Phycologia*, **9**, 179-183.
- Bates, S. S., Bird, C. J., de Freitas, A. S. W., Foxall, R., Gilgan, M., Hanic, L. A., Johnson, G. R., McCulloch, A. W., Odense, P., Pocklington, R., Quilliam, M. A., Sim, P. G., Smith, J. C., Subba Rao, D. V., Todd, E. C. D., Walter, J. A. and J. L. C. Wright, 1989. Pennate diatom *Nitzschia pungens* as the primary source of domoic acid, a toxin in shellfish from eastern Prince Edward Island, Canada. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **46**, 1203-1215.
- Binder, B. J. and D. M. Anderson, 1986. Green light-mediated photomorphogenesis in a dinoflagellate resting cyst. *Nature*, **322**, 659-661.
- Chen L. C. M., Edelman T. and J. McLachlan, 1969. *Bonnemaisonia hamifera* Hariot in nature and in culture. *J. Phycol.*, **5**, 211-220.
- Cottrell, M. T. and C. A. Suttle, 1995. Dynamics of a lytic virus infecting the photosynthetic marine picoflagellate *Micromonas pusilla*. *Limnol. Oceanogr.*, **40**, 730-739.
- Cupp, E. E., 1943. Marine planktonic diatoms of the west coast of North America. *Bull. Scripps Inst. Oceanogr.*, **5**, 237 pp.
- Dale B., 1983. Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton", pp 69-136. In: Survival strategies of the algae, (ed. G. A. Fryxell), Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Davis, C. O., Hollibough, J. T., Seibert, D. L. R., Thomas, W. H. and P. J. Harrison, 1980. Formation of resting spores by *Leptocylindrus danicus* (Bacillariophyceae) in a controlled experimental ecosystem. *J. Phycol.*, **16**, 296-302.
- Davis, J. S., 1972. Survival records in the algae, and the survival role of certain algae pigments, fat, and mucilaginous substances. *The Biologist*, **54**, 52-93.
- Drebes, G., 1966. On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana*. *Helgolander wiss. Meeresunters.*, **13**, 101-104.
- Durbin, E. G., 1978. Aspects of the biology of resting spores of *Thalassiosira nordenskiöldii* and *Detonula confervacea*. *Mar. Biol.*, **45**, 31-37.
- Eilertsen, H. C., Sandberg, S. and H. Tollefsen, 1995. Photo-periodic control of diatom spore growth: a theory to explain the onset of phytoplankton blooms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **116**, 303-307.
- 遠藤拓郎・長田 宏, 1984. 渦鞭毛藻 *Peridinium* sp. のシストの休眠と発芽. 日本プランクトン学会報, **31**, 23-33.
- French, F. W. and P. E. Hargraves, 1980. Physiological characteristics of phytoplankton diatom resting spores. *Mar. Biol. Lett.*, **1**, 185-195.
- French, F. W. and P. E. Hargraves, 1986. Population dynamics of the spore-forming diatom *Leptocylindrus danicus* in Narragansett Bay, Rhode Island. *J. Phycol.*, **22**, 411-420.
- Fryxell, G. A., 1983. Survival strategies of the algae. Cambridge Univ Press, Cambridge. 144 pp.
- Fryxell, G. A., 1991. Comparison of winter and summer growth stages of the diatom *Eucampia antarctica* from the Kerguelen Plateau and south of the Antarctic convergence zone. In: Proceedings of the Ocean Drilling Program, (eds Barron, J. A. and B. Larsen) Scientific Results 119. College Station TX (Ocean Drilling Program), pp. 675-685.
- Fryxell, G. A., 1994. Planktonic marine diatom winter stages: Antarctic alternatives to resting spores. In: Proceedings of the 11th International Diatom Symposium, California Academy of Sciences, pp. 437-448.
- 福代康夫, 1982. 日本沿岸における *Protogonyaulax* の分類と

- 生態に関する研究. 東京大学学位論文, 220 pp.
- 福代康夫・渡辺 信・渡辺正孝, 1982. 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽Ⅱ. *Protogonyaulax tamarensis* と *P. catenella* におけるシストの発芽の季節性. 国立公害研報, **30**, 43-52.
- Garrison, D. L., 1981. Monterey Bay phytoplankton. II. resting spore cycles in coastal diatom populations. *J. Plankton. Res.*, **3**, 137-156.
- Garrison, D. L., 1984. Planktonic diatoms, p. 1-17. In: Marine Plankton Life Cycle Strategies, (eds. K. A. Steidinger and L. M. Walker), CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Gran, H. H., 1912. Pelagic plant life. In: The Depths of the Ocean. (eds. Murray, J. and J. Hjort), Macmillan, London, pp. 307-386.
- Gran, H. H. and K. Yendo, 1914. Japanese diatoms. I. On *Chaetoceros*. Videnskapsselskapets Skrifter. I. Mat.-Naturv. Klasse. 1913. No. 8. Utgit for Fridtjof Nansens Fond, Christiania, 29 pp.
- Gucler, S. M. and M. G. Gross, 1964. Recent marine sediments in Saanich Inlet, a stagnant marine basin. *Limnol. Oceanogr.*, **9**, 359-376.
- Guillard, R. R. L. and P. Kilham, 1977. The ecology of marine planktonic diatoms. In: The Biology of Diatoms. (ed. D. Werner), Blackwell Scientific Publications, Oxford. pp. 372-469.
- Guillard, R. R. L. and J. H. Ryther, 1962. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.*, **8**, 229-239.
- Hargraves, P. E., 1976. Studies on marine planktonic diatoms. II. resting spore morphology. *J. Phycol.*, **12**, 118-128.
- Hargraves, P. E., 1979. Studies on marine planktonic diatoms. IV. morphology of *Chaetoceros* resting spores. *Nova Hedwigia Beih.*, **64**, 99-120.
- Hargraves, 1984. Resting spore formation in the marine diatoms *Ditylum brightwellii* (West) Grun. ex V. H. In: Proceedings of the 7th International Diatom Symposium. (ed. D. G. Mann), O. Koeltz Science Publishers, Koenigstein, pp. 33-46.
- Hargraves, 1986. The relationship of some fossil diatom genera to resting spores. In: Proceedings of the 8th International Diatom Symposium. (ed. M. Ricard.), O. Koeltz Scientific Books, Koenigstein, pp. 67-80.
- Hargraves, P. E. and F. French, 1975. Observation on survival of diatom resting spores. *Nova Hedwigia Beih.*, **53**, 229-238.
- Hargraves, P. E. and F. W. French, 1983. Diatom resting spores: significance and strategies, In: Survival strategies of the algae, (ed. G. A. Fryxell), Cambridge Univ. Press, Cambridge. pp. 49-68.
- Harper, J. L., 1977. Population Biology of Plants. Academic Press, London.
- Hasle, G. R., 1973. Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Norw. J. Bot.*, **20**, 109-137.
- Hoban, M. A., Fryxell, G. A. and K. R. Buck, 1980. Biddulphoid diatoms: resting spores in Antarctic *Eucampia* and *Odontella*. *J. Phycol.*, **16**, 591-602.
- Hollibough, J. T., Seibert, D. L. R. and W. H. Thomas, 1981. Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) species. *J. Phycol.*, **17**, 1-9.
- Holligan, P. M., 1985. Marine dinoflagellate blooms — growth strategies and environmental exploitation, In: Toxic Dinoflagellates, (ed. Anderson, D. M., White, A. W. and D. G. Baden), Elsevier, New York. pp. 133-139.
- Honjo T., 1992. Harmful red tides of *Heterosigma akashiwo*. *NOAA Technic Rep NMFS*, **111**, 27-32.
- 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. 南西水研報, **23**, 63-166.
- Imai, I., Ishida, Y. and Y. Hata, 1993a. Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. *Mar. Biol.*, **116**, 527-532.
- Imai, I. and S. Itakura, 1991. Densities of dormant cells of the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) in bottom sediments of northern Hiroshima Bay, Japan. *Bull. Jpn. Soc. microb. Ecol.*, **6**, 1-7.
- 今井一郎, 板倉 茂, 伊藤克彦, 1990. 播磨灘および北部広島湾の海底泥中における珪藻類の休眠細胞の分布, 沿岸海洋研究ノート, **28**, 75-84.
- 今井一郎・板倉 茂・大内 晟, 1993. 北部広島湾における *Chattonella* 赤潮の発生と海底泥中のシストの挙動. 日本誌, **59**, 1-6.
- Imai, I., Itakura, S., Yamaguchi M. and T. Honjo, 1996. Selective germination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) cysts in bottom sediments under low light conditions: A possible mechanism of red tide initiation. In: Harmful and toxic algal blooms. (eds. Yasumoto, T., Oshima, Y., and Y. Fukuyo), International Oceanographic Commission of UNESCO, Paris, pp. 197-200.
- Imai, I. and K. Itoh, 1987. Annual life cycle of *Chattonella* spp., causative flagellates of noxious red tides in the Inland Sea of Japan. *Mar. Biol.*, **94**, 287-292.
- Imai, I., Itoh, K. and M. Anraku, 1984. Extinction dilution method for enumeration of dormant cells of red tide organisms in marine sediments. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **31**, 123-124.
- Imai, I. and K. Itoh, 1988. Cysts of *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae) in sediments of the Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **35**, 35-44.
- Ishikawa, A. and A. Taniguchi, 1994. The role of cysts on population dynamics of *Scrippsiella* spp. (Dinophyceae) in Onagawa Bay, northeast Japan. *Mar. Biol.* **119**, 39-44.
- 板倉 茂・今井一郎・伊藤克彦, 1991. 東部瀬戸内海域の底泥中における有害赤潮鞭毛藻 *Chattonella* (Raphidophyceae) のシストの分布. 日本誌, **57**, 1079-1088.
- 伊藤克彦・今井一郎, 1987. ラフィド藻, p. 122-130. 赤潮生物研究指針, 日本水産資源保護協会編, 秀和, 東京.
- 巖佐 庸, 1981. 生物の適応戦略. 団 勝磨・山口昌哉・岡田節人編集. サイエンス社. 東京. 229 pp.
- Karsten, G., 1905. Das Phytoplankton des Antarktischen Meeres nach dem Material der deutschen Tiefsee-Expedition, 1898-1899. *Dtsch. Tiefsee Exped.*, **2**, 1-136.
- Kashkin, N. I., 1964. On the water deposits of phytoplankton in the sublittoral regularity of the distribution of oceanic plankton. *Trudy Okeanol. Inst. Akad. Nauk, U.S.S.R.*

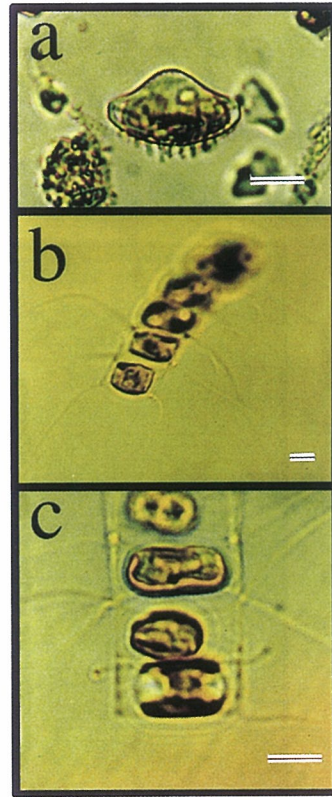


- 65, 49-57. (Abst. *Deep-Sea Res.* **13**, 333.)
- Kilham, P. and S. S. Kilham, 1980. The evolutionary ecology of phytoplankton. In: The physiological ecology of phytoplankton. (ed. Morris, I), Blackwell, Oxford, p 571-597.
- 木保正夫・河合 章・石田祐三郎, 1960. 海底泥土の採集法. 日本水産学会誌, **26**, 1227-1230.
- 小久保清治, 1960. 浮遊珪藻類. 恒星社厚生閣, 東京.
- Krawiec, 1982. Autecology and clonal variability of the marine centric diatom *Thalassiosira rotula* (Bacillariophyceae) in response to light, temperature and salinity. *Mar. Biol.* (Berl.) **69**, 79-89.
- 倉茂英次郎・喜多村一男, 1934. 中海に於ける珪藻と赤潮. 気象集誌 第2輯, **12**, 287-300.
- Kuwata, A., Hama, T. and M. Takahashi, 1993. Ecophysiological characterization of two life forms, resting spores and resting cells, of a marine planktonic diatom, *Chaetoceros pseudocurvisetus*, formed under nutrient depletion. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **102**, 245-255.
- Kuwata, A. and M. Takahashi, 1990. Life-form population responses of a marine planktonic diatom, *Chaetoceros pseudocurvisetus*, to oligotrophication in regionally upwelled water. *Mar. Biol.*, **107**, 503-512.
- Lund, J. W. G., 1954. The seasonal cycle of the planktonic diatom, *Melosira italica* (Ehr.) Kutz. subsp. *subarctica* O. Mull. *J. Ecol.* **42**, 151-179.
- Malone, T. C., Garside, C., Anderson, R. and A. Roels, 1973. The possible occurrence of photosynthetic microorganisms in deep-sea sediments of the north Atlantic. *J. Phycol.*, **9**, 482-488.
- Manabe, T. and S. Ishio, 1991. Bloom of *Coscinodiscus wailesii* and DO deficit of bloom water in Seto Inland Sea. *Mar. Poll. Bull.*, **23**, 181-184.
- Margalef, R., 1978. Life-forms of phytoplankton as survival alternatives in an unstable environment. *Oceanologica Acta* **1**, 493-509.
- Margalef, R., M. Estrada and D. Blasco, 1979. Functional morphology of organisms involved in red tides, as adapted to decaying turbulence, p. 89-94. In: Toxic Dinoflagellate Blooms, (ed. D. L. Taylor and H. H. Seliger), Elsevir, New York.
- 松下まり子, 1982. 播磨灘表層堆積物の花粉分析—内海域における花粉・胞子の動態—. 第四紀研究, **21**, 15-22.
- McQuoid, M. R. and L. A. Hobson, 1995. Importance of resting stages in diatom seasonal succession. *J. Phycol.*, **31**, 44-50.
- McQuoid, M. R. and L.A. Hobson, 1996. Diatom resting stages. *J. Phycol.*, **32**, 889-902.
- Miyahara, K., Nagai, S., Itakura, S., Yamamoto, K., Fujisawa, K., Iwamoto, T., Yoshimatsu, S., Matsuoka, S., Yuasa, A., Makino, K., Hori, Y., Nagata, S., Nagasaki, K., Yamaguchi, M. and T. Honjo, 1996. First record of a bloom *Thalassiosira diporocyclus* in the eastern Seto Inland Sea. *Fisheries Science*, **62**, 878-882.
- Mukai, T., 1987. Effects of surrounding physical and chemical environment on the spatial heterogeneity in phytoplankton communities of Hiroshima Bay. *Japan. Jour. cost. Res.* **3**, 269-279.
- 長井 敏・堀 豊・真鍋武彦・今井一郎, 1995. 海底泥中から見いだされた大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* Gran 休眠細胞の形態と復活. 日本誌, **61**, 179-185.
- Nagasaki, K., Ando, M., Imai, I., Itakura, S. and Y. Ishida, 1994. Virus-like particles in *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae): a possible red tide disintegration mechanism. *Mar. Biol.* **119**, 307-312.
- 中原絃之・左子芳彦, 1987. 淡水植物プランクトンの生活史, p. 21-77. 淡水赤潮, 門田 元編, 恒星社厚生閣, 東京.
- 中田 薫, 1982. 北海道噴火湾の1981年春期増殖期における植物プランクトンの組成. 水産海洋研究会報, **41**, 27-32.
- 中田英昭・平野敏行, 1989. 瀬戸水域における底質の粒径分布. 水産海洋研究, **53**, 231-241.
- Odate, T. and Y. Maita, 1990. Seasonal distribution and vertical flux of resting spores of *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) Species in the neritic water of Funka Bay, Japan. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **41**, 1-7.
- Odate, T., 1987. Temporal and horizontal distribution of the diatom community during the spring bloom in Funka Bay, southern Hokkaido. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **34**, 33-42.
- Oku, O. and A. Kamatani, 1995. Resting spore formation and phosphorus composition of the marine diatom *Chaetoceros curvisetus* under various nutrient conditions. *Mar. Biol.*, **123**, 393-399.
- 大塚弘之・萩平 将・吉田正雄, 1991. 植物プランクトン種の短期交替と環境変動—II. p. 67-73, 有害赤潮の生態学的制御による被害防除技術の開発に関する研究, 平成2年度報告書. 南西水研.
- 大内 晟・高山晴義, 1981. 主成分分析による赤潮図について. 日本誌, **47**, 1275-1279.
- Parsons, T. R., Harrison, P. J. and R. Waters, 1978. An experimental simulation of changes in diatom and flagellate blooms. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, **32**, 285-294.
- Pfiester, L. A. and D. M. Anderson, 1987. Dinoflagellate life cycles and their environmental control. In: The biology of Dinoflagellates, (ed. F. J. R. Taylor), Blackwell Scientific Publications, Ltd., pp. 611-648.
- Pilson, M. E. Q., 1978. An adventure in studying marine ecosystems. *Maritimes*, **22**, 12-15.
- Pitcher, G. C., 1986. Sedimentary flux and the formation of resting spores of selected *Chaetoceros* species at two sites in the southern Benguela system. *S. Afr. J. mar. Sci.*, **4**, 231-244.
- Pitcher, G. C., 1990. Phytoplankton seed populations of the cape Peninsula upwelling plume, with particular reference to resting spores of *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) and their role in seeding upwelling waters. *Estuar. coast. Shelf Sci.*, **31**, 283-301.
- Pratt, D. M., 1966. Competition between *Skeletonema costatum* and *Olisthodiscus luteus* in Narragansett Bay and in culture. *Limnol. Oceanogr.* **11**, 447-455.
- Raymont, J. E. G., 1980. Plankton and productivity in the oceans, 2nd edition, Vol. 1, Phytoplankton. Pergamon Press, 489 pp.
- Reynolds, C. S., 1984. The Ecology of Freshwater Phytoplankton. Cambridge Univ Press, Cambridge.
- Rines, J. E. B. and P. E. Hargraves, 1988. The *Chaetoceros* Ehrenberg (Bacillariophyceae) flora of Narragansett Bay, Rhode Island, U.S.A. J. Cremer, Berlin.
- Roman, M. R. and K. R. Tenore, 1978. Tidal resuspension in Buzzards Bay, Massachusetts. I. seasonal change in the resuspension of algal carbon and chlorophyll *a*. *Estuar. cost. mar. sci.* **6**, 37-46.

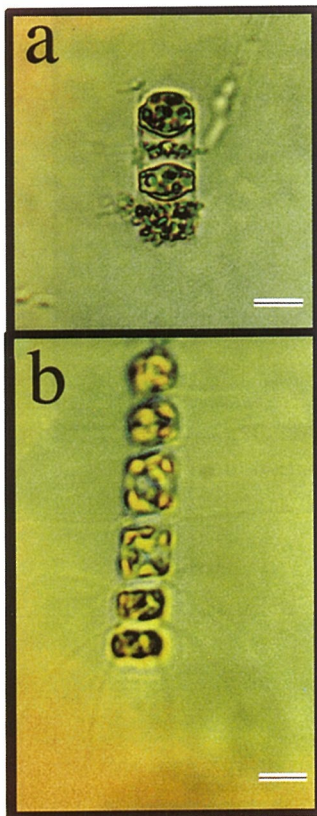
- Round, F. E., Crawford, R.M. and D. G. Mann, 1990. The diatoms. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 747 pp.
- Sicko-Goad, L., 1986. Rejuvenation of *Melosira granulata* (Bacillariophyceae) resting cells from the anoxic sediments of Douglas Lake, Michigan. II. Electron microscopy. *J. Phycol.* **22**, 28–35.
- Sicko-Goad, L., Stoermer, E.F. and G. Fahnenstiel, 1986. Rejuvenation of *Melosira granulata* (Bacillariophyceae) resting cells from the anoxic sediments of Douglas Lake, Michigan. I. Light microscopy and  $^{14}\text{C}$  uptake. *J. Phycol.* **22**, 22–28.
- Sicko-Goad, L., Stoermer, E. F. and J.P. Kociolek, 1989. Diatom resting cell rejuvenation and formation: time course, species records and distribution. *J. Plankton Res.* **11**, 375–389.
- Smayda, T. J. and B. Mitchell-Innes, 1974. Dark survival of autotrophic, planktonic marine diatoms. *Mar. Biol.*, **25**, 195–202.
- Smetacek, V. S., 1985. Role of sinking in diatom life-history cycles: ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.*, **84**, 239–251.
- Sournia, A., 1969. Annual cycle of phytoplankton and of primary production in the tropical seas. *Mar. Biol.*, **3**, 287–303.
- Stockner, J. G. and J. W. G. Lund, 1970. Live algae in post-glacial lake deposits. *Limnol. Oceanogr.*, **15**, 41–58.
- Stockwell, D. A. and P. E. Hargraves, 1986. Morphological variability within resting spores of the marine diatom genus *Chaetoceros* Ehrenberg. In: Proceedings of the 8th International Diatom Symposium (ed. M. Ricard), pp. 81–95. Koenigstein, Koeltz.
- Stosch, von H. A., 1967. Diatomeen. In: Vegetative Fortpflanzung, Parthenogenese und Apogamie bei Algen. (eds. Ettl, H., Muller, D. G., Neumann, K., Stosch, von H. A. and W. Weber), Handbuch der Pflanzenphysiologie (ed. W. Ruhland), Springer-Verlag, Berlin., **18**, 657–681.
- Stosch, von H. A. and G. Drebes, 1964. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. IV. Die planktondiatomee *Stephanopyxis turris* — ihr Behandlung und Entwicklungsgeschicht. *Helgol. wiss. Meeresunters.*, **11**, 209–257.
- Stosch, von H. A., Theil, G. and K. V. Kowallik, 1973. Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an zentrischen Diatomeen. V. Bau und Lebenszyklus von *Chaetoceros didymum*, mit Beobachtungen über einige andere Arten der Gattung. *Helgol. wiss. Meeresunters.*, **25**, 384–445.
- Strickland, J. D. H. and T. R. Parsons, 1972. A practical handbook of seawater analysis. 2nd ed. *Bull. Fish. Res. Bd. Canada*, **167**, 310 pp.
- Syvrtsen, E. E., 1979. Resting spore formation in clonal cultures of *Thalassiosira antarctica* Comber, T. *nordenskiöldii* Cleve and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Nova Hedwigia Beih.*, **64**, 41–63.
- 高橋正征, 1979. 水質汚濁研究におけるマイクロコズムの利用. 水質汚濁研究, **2**, 12–19.
- Takahashi, M., Seibert D. L. and W. H. Thomas, 1977. Occasional blooms of phytoplankton during summer in Saanich Inlet, B. C., Canada. *Deep-Sea Res.* **24**, 775–780.
- 高野秀昭, 1987. 珪藻, p. 478–542. 赤潮生物研究指針, 日本水産資源保護協会編, 秀和, 東京.
- 高野秀昭, 1990. 珪藻綱 Bacillariophyceae, p. 162–331. 日本の赤潮生物—写真と解説, 福代康夫, 高野秀昭, 千原光雄, 松岡数充編, 内田老鶴圃, 東京.
- 谷口 旭, 1991. 海とプランクトン, 5—植物プランクトンの主要分類群(12). 海洋と生物, **76**, 322–329.
- Tate, M. and R. C. Clelland, 1957. Nonparametric and shortcut statistics in the social, biological, and medical sciences. Interstate, Illinois.
- Thronsdon, J., 1978. The dilution-culture method. In: Sournia A (ed) Phytoplankton manual, UNESCO, Paris, p 218–224.
- Umebayashi, O., 1972. Preservation of some cultured diatoms. *Bull. Tokai reg. Fish. Res. Lab.*, **69**, 55–61.
- Van Dam, H., 1993. Twelfth International Diatom Symposium. (ed. H. van Dam), 540 p. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Wall, D. and B. Dale, 1968. Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridinales. *Micropaleontology*, **14**, 265–304.
- Werner, D., 1977. The Biology of Diatoms. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 498 pp.
- White, A. W. and C. M. Lewis, 1982. Resting cysts of toxic red tide dinoflagellate *Gonyaulax excavata* in Bay of Fundy sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 1185–1194.
- Wood, E. J. F., 1959. Some aspects of Marine Microbiology. *J. Mar. Biol. Assoc. India.*, **1**, 26–32.
- 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一, 1980a. 植物プランクトンの富栄養階級表. 日水誌, **46**, 1435–1438.
- 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一, 1980b. ニ・三の海域の富栄養度判定. 日水誌, **46**, 1439–1444.
- 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一, 1982. 瀬戸内海主要海域の生物学的富栄養階級図. 日水誌, **48**, 1129–1132.
- 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.
- 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* の増殖に及ぼす水温, 塩分および光強度の影響. 日水誌, **57**, 1277–1284.
- 山口峰生・板倉 茂・今井一郎, 1995. 広島湾海底泥における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarense* および *Alexandrium catenella* シストの現存量と水平・鉛直分布. 日水誌, **61**, 700–706.
- 矢持 進, 1989. 大阪湾における *Skeletonema costatum* と *Heterosigma akashiwo* の底生期細胞の分布について. 日本プランクトン学会報, **36**, 47–51.
- Yentsch, C., M., Lewis, C., M. and C., S. Yentsch, 1980. Biological resting in the dinoflagellate *Gonyaulax excavata*. *BioScience*, **30**, 251–254.
- Zgurovskaya, L., N., 1977. Influence of the addition of nutrients on spore germination and division of algae from bottom sediments. *Oceanology*, **17**, 75–77.



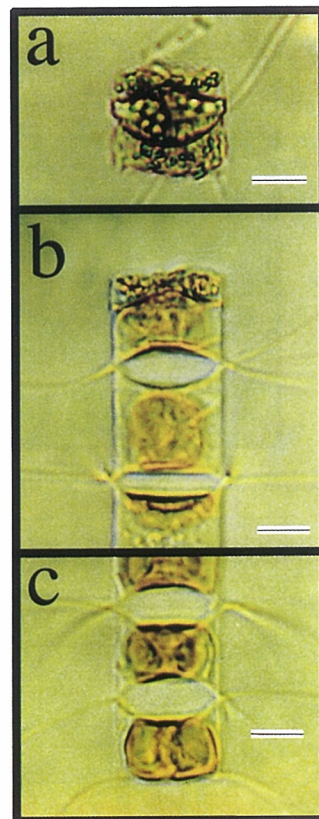
**Plate 1-1.** Resting spores (a) and germinated cells (b) of *Chaetoceros didymus* var. *didymus* Ehrenberg. Bar=10  $\mu$ m



**Plate 1-2.** Resting spore (a) and germinated cells (b, c) of *Chaetoceros hispidum* Brightwell. Bar=10  $\mu$ m



**Plate 1-3.** Resting spores (a) and germinated cells (b) of *Chaetoceros* sp.-A. Bar=10  $\mu$ m



**Plate 1-4.** Resting spore (a) and germinated cells (b, c) of *Chaetoceros* sp.-B. Bar=10  $\mu$ m

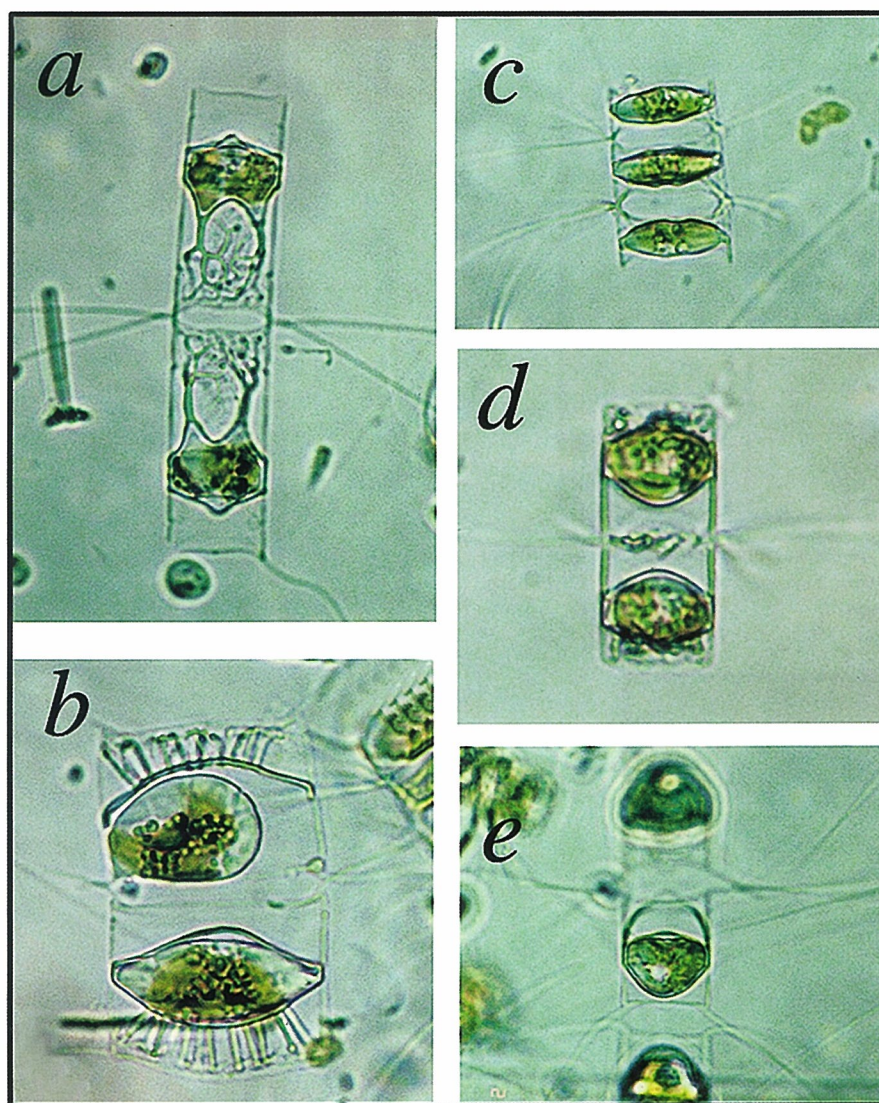
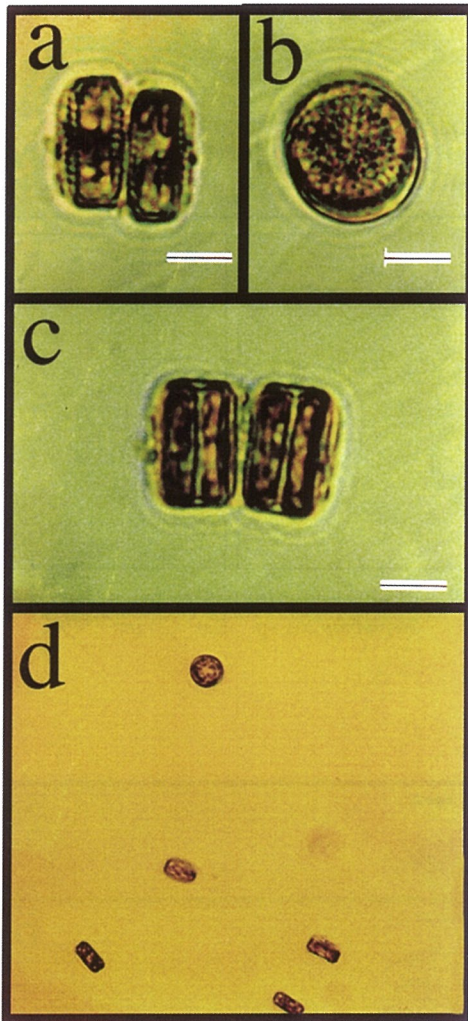
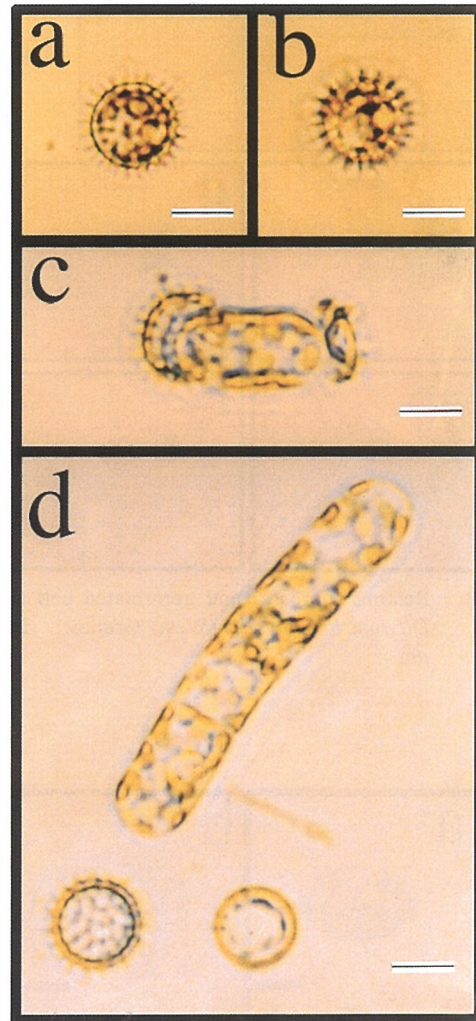


Plate1-5. Resting spores of *Chaetoceros* spp. (a-e)



**Plate1-6.** Resting spores (a, b) and germinated cells (c) of *Thalassiosira* sp. Bar=10  $\mu$ m



**Plate1-7.** Resting spore (a, b) and germinated cells (c, d) of *Leptocylindrus danicus* Cleve. Bar=10  $\mu$ m

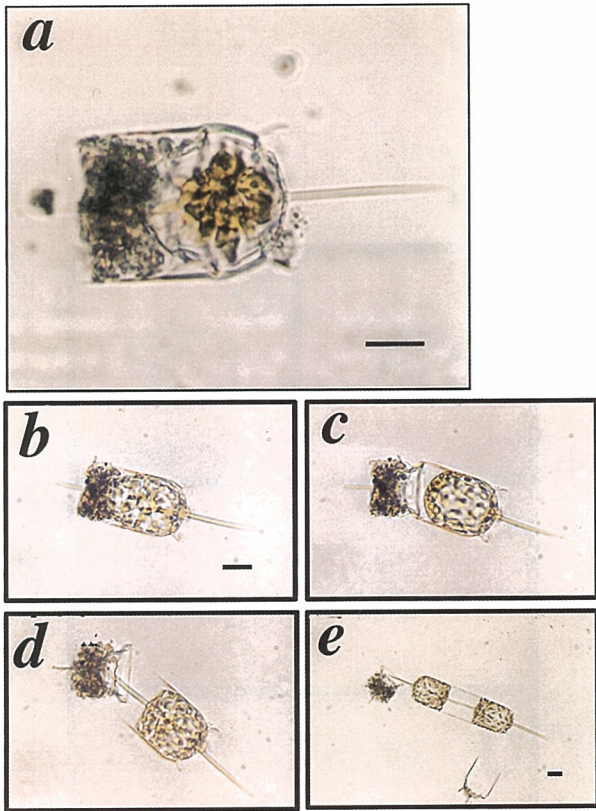


Plate 1-8. Resting spore (a) and germinated cell (b-e) of *Ditylum brightwellii* (West) Grunow. Bar=20  $\mu$ m

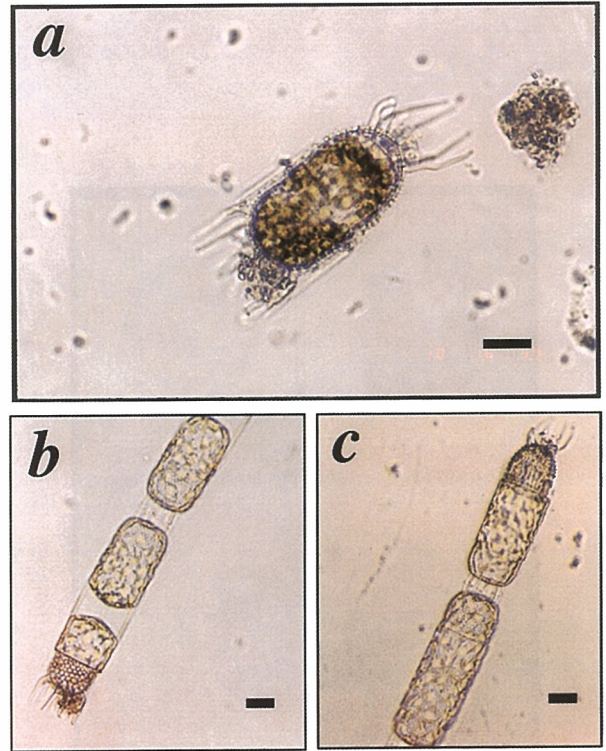


Plate 1-9. Resting spore (a) and germinated cells (b, c) of *Stephanopyxis* sp. Bar=20  $\mu$ m

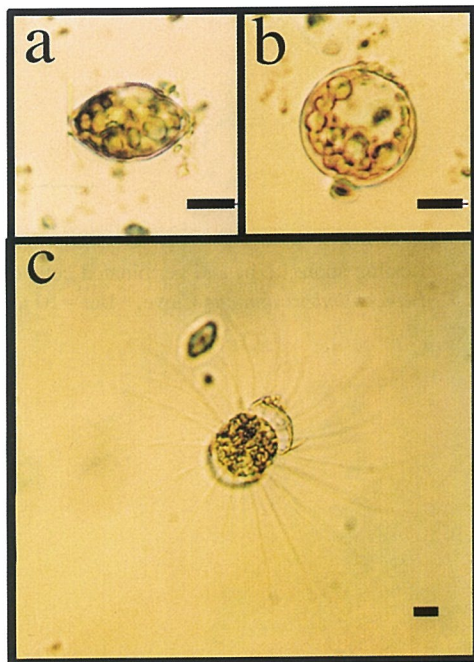


Plate 1-10. Resting spore (a, b) and germinated cells (c) of *Bacteriastrum hyalinum* Lauder. Bar=10 $\mu$ m

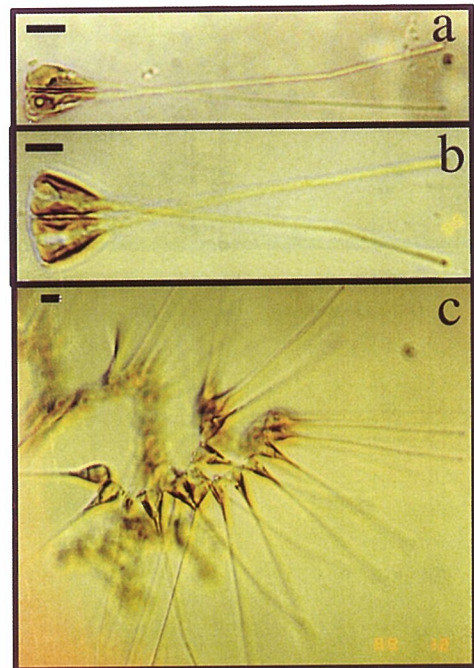
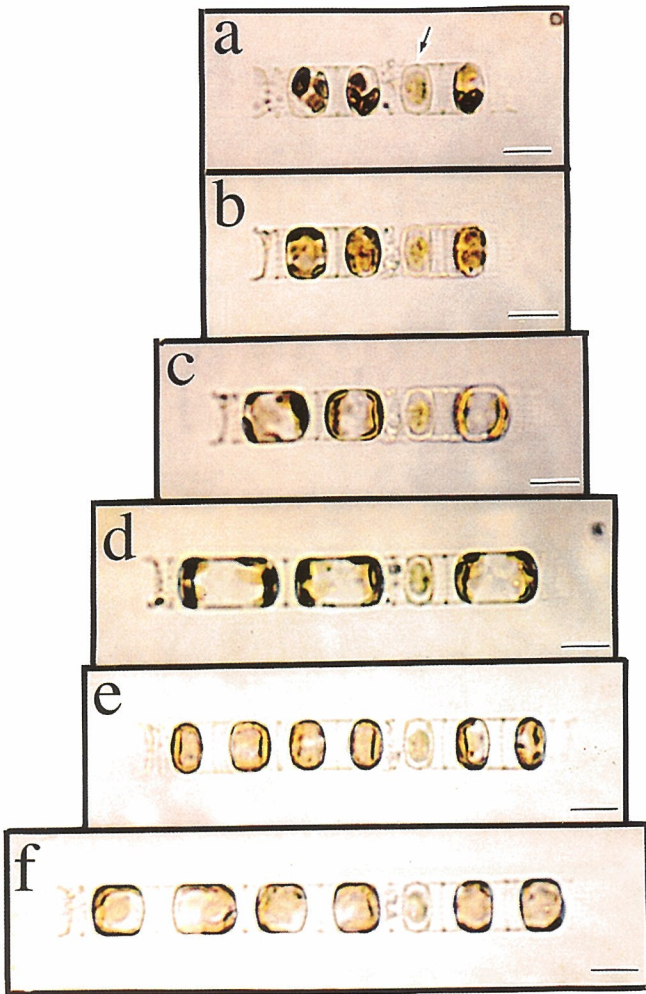
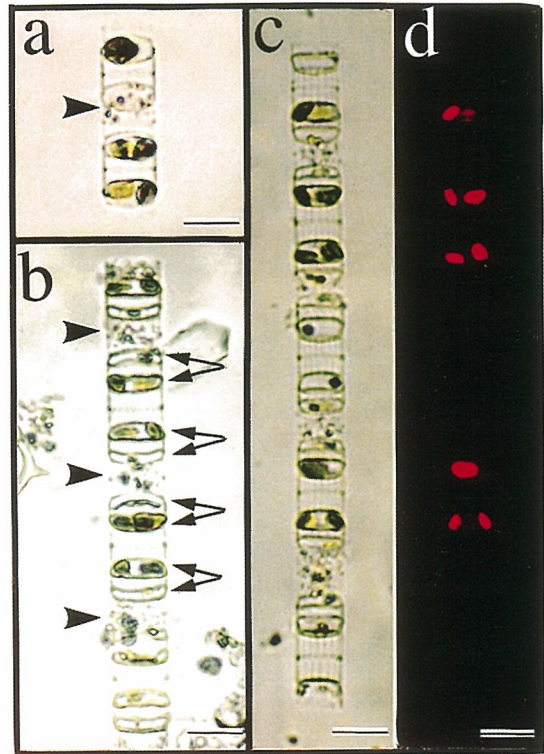


Plate 1-11. Resting cells (a) and germinated cell (b, c) of *Asterionellopsis gracialis* (Castracane) Round. Bar=10  $\mu$ m

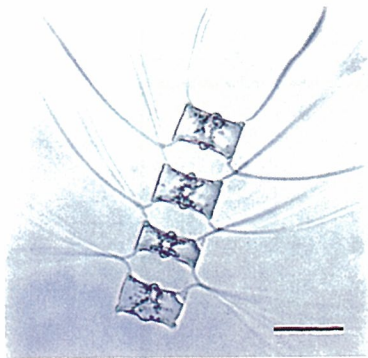


**Plate 1-12.** Resting cells (a) and germinated cells (b-f) of *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve. Bar=10  $\mu$ m. Arrow indicates an empty (dead) cell



**Plate 1-13.** Normal light (a-c) and epifluorescence (d) micrographs of two types of *S. costatum* resting cells which were observed in sediment samples collected from Hiroshima Bay. Bar=10  $\mu$ m

- a: Resting cells of "type A", observed under normal light. An arrowhead indicates the extraneous matters which stuck to every other strutted processes.
- b: Resting cells of "type B", observed under normal light. Combined arrows indicate resting cell and corresponding rudimentary cell. arrowheads indicate the extraneous matters which stuck to strutted processes at intervals of four cells.
- c: Resting cells of "type B", observed under normal light.
- d: The same resting cells as in c, observed under blue-light excitation.



**Plate 2-1.** Vegetative cells of *Chaetoceros didymus* var. *protuberans*. Scale bar, 30 $\mu$ m.

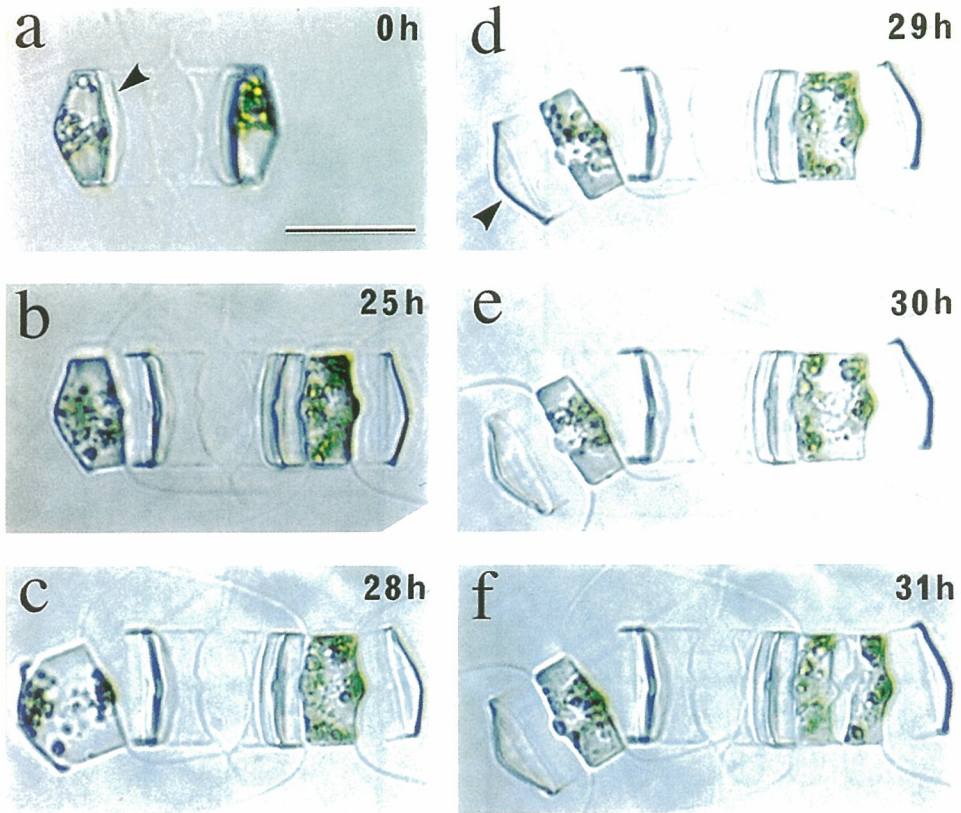


Plate 3-1. Germination process of *C. didymus* var. *protuberans* resting spores.

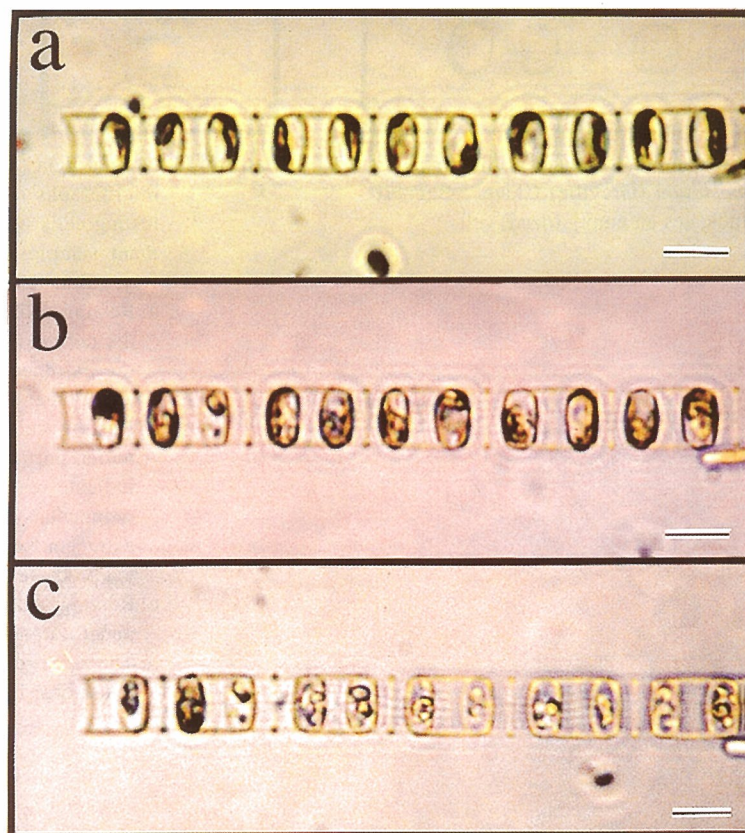


Plate 3-2. Temporal change in incubated resting cells of *S. costatum* (isolated from sea water sample) under optimum condition for germination.