

Chattonella antiqua (Chloromonadophyceae) の形態及び増殖率への塩分の影響

古賀文洋

Influence of salinity on the morphology and growth rate of *Chattonella antiqua* (Chloromonadophyceae)

Fumihiko KOGA

The influences of salinity on the growth and morphology of *Chattonella antiqua* were investigated in the laboratory to determine the possible role of environmental change in relation to the initiation of blooming.

Cells cultured in the medium of 32.52‰ and kept at two different temperatures, 18°C and 25°C, were transferred into 3 degrees of low salinity media. In the medium of 0-5‰, cells turned their shape into spherical type immediately after transfer and then were collapsed. Entire cells were broken within 24hrs in 6-9‰ medium, and about 40% within 24hrs and 60% within 48hrs in 12‰ medium.

Cells continued to survive in 18-31‰ media, and the influence of temperature on the stress was also observed. In 18‰ medium, spindle shaped normal cells changed into oval shape within 2 days, and turned into spherical type after 6 days. In 31‰ medium, the appearance of spindle shaped cells reduced to 70% within 2 days after inoculation, with the mixture of 10% spherical cells. The tendency in 24‰ medium was resemble to the results in 18‰ medium, while the intermediate phenomenon between 18‰ and 31‰ was noticed in 27‰ medium.

The growth rate was estimated depending on the change of salinity and the rate of appearance of the spindle shaped cells. The 30% reduction of salinity induced 45% decrease of normal cells after 24hrs, and 60% decrease after 48hrs at 18°C. The identical decrease of salinity at 25°C caused 90% decrease of growth. No growths, without spindle shaped cells, were obtained in the medium with salinity decrease more than 30% of the initial level.

Chattonella antiqua (HADA) ONO は、羽田 (1972) によって広島湾から採集され *Hemieuptreptia antiqua* と命名されたが、ONO and TAKANO (1980) によって *Chattonella* 属 (BICHELER 1936) に移された種である。本種は播磨灘及びその周辺において赤潮を形成し、大きな漁業被害を与える鞭毛藻である。瀬戸内海の鞭毛藻類は他種、特に珪藻類との競合関係を示し、相互の交替によって増殖し赤潮を形成する (秋月他 1980, 小野 1981, 竹内 1981, 古賀他 1981)。

このような種間関係とともに赤潮プランクトンの変動に関する諸要因の中で、特に影響の大

きいものとして降雨による沿岸域の塩分の急激な変化が考えられる。例えば、古賀他 (1981) によると1980年の夏季に2—7日の間隔で140ミリに達する日間最大量を含む大量の降雨が繰り返され、そのため広島湾の塩分値は22—32%の間を変動し、湾奥部の表層水では一時的に0—10%まで低下した。このような環境状態のもとで広島湾及び播磨灘の *Chattonella* の細胞は正常な紡錘形よりも球形や隋円形を示す変形個体が多く観察され、かつこの期間を通じて本種の増殖が大きく抑制されたことが報告されている。

このように鞭毛藻類による赤潮の発生と塩分変化との間には重要な関係があると考えられるので、本報では短時間における塩分変化が *C. antiqua* に与える影響を実験的に究明した。なお、塩分と本種の生理特性に関する既往の研究(池田 1971, 岩崎 1971, 野沢 1978, 小野他 1978)の中で前述のような環境急変時の短時間におけるその形態及び増殖率の変化を取扱った研究は見当らない。

本稿について校閲及び懇切な御助言を戴いた本所の上村忠夫所長及び安楽正照赤潮部長に深謝の意を表す。

方 法

実験に供した *Chattonella antiqua* は、18℃及び25℃の恒温槽に設置した試験管の10mlの ES 培地(塩分, 32.52%)で培養したもので、全細胞が正常な紡錘形であった。この細胞を0—31%範囲の各種塩分培地に接種し、接種後数日間の死亡率及び形態変化を通じて短期間の塩分変化に対する *C. antiqua* の適応、すなわち、適応限界、形態変化、増殖率の低下などを追求した。更に、これらの結果にもとづいて降雨などによる自然界での環境変化による *C. antiqua* の増殖への影響について若干の考察を加えた。

なお、実験に当って、適応限界の試験は塩分0—13%範囲における死亡率により、他方、形態変化並びに増殖率の低下については18—31%範囲の塩分変化に対する反応にもとづいており、各々3回行った。

結 果

1. *Chattonella antiqua* の死亡率 (培養温度, 25℃)

塩分0及び4%培地(実測塩分 3.6%)中に接種した細胞はその瞬間に球形に変化し、直ちに壊れ始めた。5%培地(塩分 4.5, 5.1%)中に接種した細胞は接種2分後に約50%, 4分後に100%が壊れた。塩分6.0%培地中の細胞は接種直後から壊れ始め、死亡率は6分後に50%, 30分後に73%, 1時間後に95%, 2時間後に99.2%になり、3時間後には生残した細胞がなかった。7%培地(塩分 6.4, 7.1%)中の細胞は接種後直ちに球形に変化した。接種後の死亡率は30分後に10%, 4—5時間後に50%, 10時間後に80—90%になり、24時間後の生残細胞がなかった。9%培地(塩分 8.9%)中の細胞は接種直後、球形に変化した。接種10時間後においても死亡

しなかった。しかし、13時間後に細胞の13%が壊れており、24時間後には生残細胞がなかった。12%培地（塩分 11.9%）の試験では接種後、一時的にすべての細胞が球形になったが、直ちに旧形に復元し始め、真球形細胞は18%であった。この球形細胞の出現率は2時間後に15%になり、この状態が10時間後まで継続し、この間に壊れた細胞はなかった。しかし、24時間後にはその約90%が球形、他の約10%が楕円形に変化し、死亡率は約60%であった（Fig. 1）。

2. *Chattonella antiqua* 形態への塩分変化の影響

C. antiqua の形態変化は環境変化の細胞に与えたストレスの強さを表わすと思われる。

18%培地（塩分 17.8‰）中に移植した細胞の18℃培養時の変化をみると、紡錘形細胞の出現率は1日後に半数の51%、2日後には32%に減少し、6日後にはほとんどみられなかった。中間形（楕円形）細胞は1日後には43%になり、3日後には66%に増加したが、6日後には球形細胞への変化のために34%まで減少した。球形細胞は接種後2日間では3~9%であったが、6日後には64%に増大した（Fig. 2）。

塩分18%培地、25℃培養時の細胞形態は18℃培養時同様の傾向を示した。すなわち、紡錘形細胞は1日後に半数の52%、2日後には全細胞が楕円形細胞に変化した。この楕円形細胞は1日後に56%、2日後に92%に増大したが、この形態の細胞は、6日後にはすべて球形細胞に変化し、出現しなかった。反対に、球形細胞は、1日後では3%であり、2日後には16%に過ぎなかったが、6日後には全細胞が球形に変化した。24%培地（塩分 23.7‰）の25℃における培養では、3日後の事故によって細胞の形態変化の継続観察ができなかった。けれども、この2日間の観察、更に、18℃での培養の結果についてみると、細胞形態の変化は18%培地培養と同様の傾向を示した。

27%培地（塩分 26.7‰）培養についてみると接種1日後の紡錘形細胞の出現率は74%であった。けれども、2日後におけるその出現率は18℃培養では54%、25℃培養では22%に低下し、6日後には18%、25℃培養とも約10%に減少した。中間形である楕円形細胞の出現率は、18℃培養の1日後には11%であったが、2日後には20-30%に、6日後には40-50%に増加した。球形細胞の出現率は、1日後には約5%、2日後には27%に増加し、この状態が6日後まで継続した。25℃培養における楕円形細胞は、1日後には22%であったが、2日後には53%、6日後には63%に増加した。

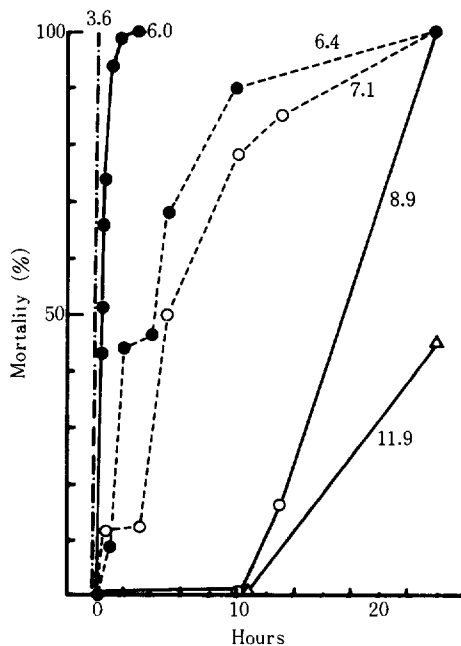


Fig. 1. Mortality of *C. antiqua* in low salinity media. Numerals in figure indicate %.

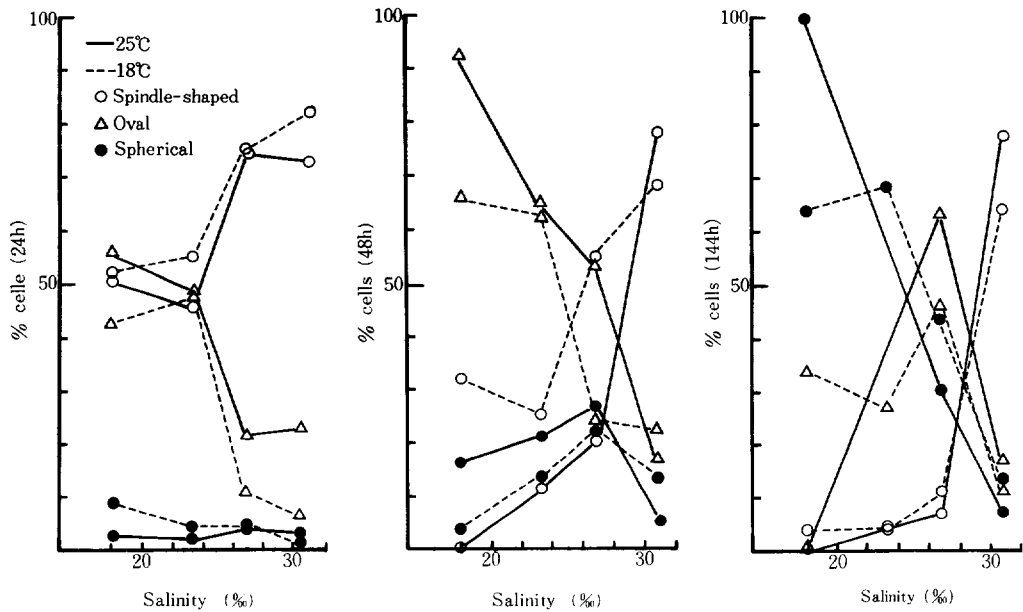


Fig. 2. Morphological variations of *C. antiqua* inoculated in the media of different salinity for the periods of 24, 48 and 144 hrs.

31‰培地（塩分 31.3‰）に32.52‰培地培養の細胞を接種し、その形態変化をみた。18℃培養時の紡錘形細胞の出現率は接種1日後では70—90％、その平均値は82％であり、2日後には68％になり、以後この状態が継続した。楕円形細胞の平均出現率は1日後では7％であり、2日後には22％になり、以後この状態が継続した。球形細胞の平均出現率は1日後でも2％、2日後においても13％であり、以後この状態が継続した。25℃培養時の紡錘形細胞の平均出現率は1日後73％、2日後78％であり、以後この状態が継続した。楕円形細胞の出現率は1日後では23％であったが、2日後には17％になり、以後この状態が継続した。球形細胞の出現率は低く、3—7％であり、この状態は継続した。このように約5％の塩分変化では細胞への接種作業の影響は1～2日間であり、以後、紡錘形細胞の状態を増殖を継続した。しかし、10—20％の球形および楕円形細胞が常に出現したことは、*C. antiqua*の形態に対し検鏡作業などが影響したと考えられる。

以上のように *C. antiqua* 細胞を18—31‰の各種の塩分培地で培養した時、24時間後の紡錘形細胞の出現率は、27—31‰範囲においては70—80％であったが、18‰濃度域では約50％に低下した。中間型の楕円形細胞出現率は27—31‰範囲では10—20％であるが、18‰域では約50％に増加した。この条件における球形細胞の出現率は少なく、10％以下であった。48時間後の細胞形態についてみると、紡錘形細胞の出現率は、31‰域では温度条件と無関係に70—80％であったが、18‰域においては培養温度18℃で約30％になり、25℃には出現しなかった。楕円形細胞の出現率は31‰域では約20％に過ぎなかったが、18‰域においては25℃の培養条件では約90％、18℃の培養条件では約80％であった。球形細胞の出現率は18—31‰の塩分範囲では、18と25℃の温度条件のいずれの場合にも10—30％の出現率であった。このように *C. antiqua* は18‰の低塩分域では培養開始

後48時間に紡錘形から球形に変化する過程の中間形の楕円形へ変化した。144時間の長期培養についてみると、その細胞形態は32.52‰培地における培養温度25℃では約80%、18℃では約70%が紡錘形であり、17.8‰培地における25℃培養ではほとんどの細胞が球形に変化した。しかし、18℃培養では球形細胞の出現率は約60%であり、その他の細胞は楕円形であった。26.7‰培地に接種した時、紡錘形細胞は約10%の出現にすぎず、楕円形細胞が40-60%、球形細胞が30-40%であり、17.8‰と31.3‰培地への移植時の中間的細胞形態の構成を示した。

3. 塩分変化率と増殖率

Chattonella antiqua の個体群には諸種形態の細胞がみられる。例えば、順化し指数増殖期にある細胞はほとんど正常な紡錘形であり、球形細胞はみられない。しかし、環境変化などのストレスが加わった群の球形及び中間形の楕円形細胞出現率は高くなる。このような細胞形態によってその増殖率も異なっている。25℃、33‰の ES 培地で培養中の紡錘形細胞を新しい ES 培地に移植した時、その良好な増殖率は0.5/日であった。同一培養条件の長期培養で球形及び楕円形を示す細胞を新しい ES 培地に移植しても、この形態の期間には増殖がみられなかった。しかし、この球形細胞群には移植2-3日後に少数の紡錘形細胞の出現がみられ始め、6日後には約70%の細胞が紡錘形に変化した群があり、それらの群の増殖が認められた。したがって、*C. antiqua* 個体群の増殖は事実上紡錘形細胞による増殖とみられる。このことから海水の塩分変化時の *C. antiqua* の増殖率は紡錘形細胞の出現率によって推定される。

C. antiqua の形態変化傾向はその履歴、例えば、順化した培地の種類、温度、塩分などによって異なる。塩分変化に対する *C. antiqua* の反応についてみても塩分濃度に対応した細胞形態の変化傾向はなく、それは経験した塩分、例えば、順化培養した培地の塩分などによって異ってくる。すなわち、*C. antiqua* が経験した順化培地の塩分濃度と新しい培地塩分との濃度差が細胞形態変化に相関を示しており、その差の大きさが細胞に与えるストレスの強さになっている。その点を考慮して、ここでは初期保存培地の塩分 (So) (本実験では32.52‰) を基準にし、それと接種培地の塩分 (Si) との差 (So-Si) から塩分変化率 ($S = \frac{So - Si}{So}$) を求めた。初期培地に順化し、増殖中の全細胞が正常な紡錘形である *C. antiqua* の増殖能力 (M) を1とし、塩分変化率に対応する各種塩分培地に接種した後における紡錘形細胞出現率の変化をみた (Fig. 3)。この増殖能力は紡錘形細胞の初期培地における出現率 (Ao) と Si 塩分培地での出現率 (Ai) との比 Ai/Ao として変化する。

24時間後における増殖能力 (M) と培養塩分変化率 (S) との関係をみると、培養温度 (18℃、25℃) による差は認められないので、両培養温度による値を混みにしてMとSの関係式を求めると、 $M = 94.6e^{-1.823S}$ が得られた。この関係式によれば、*C. antiqua* の増殖能力は塩分変化率0 (基準培地 32.52‰) では0.95であり、塩分変化率0.1 (培地塩分 29.3‰) では約0.8、塩分変化率0.2 (培地塩分 26.0‰) では0.7、塩分変化率0.45 (培地塩分 17.8‰) では約0.4に低下する。すなわち、*C. antiqua* の増殖能力は生息環境塩分の10%の低下では80%に、塩分の20%低下では70%に、塩分の50%低下では40%に低下することであり、これらの値から塩分33‰培

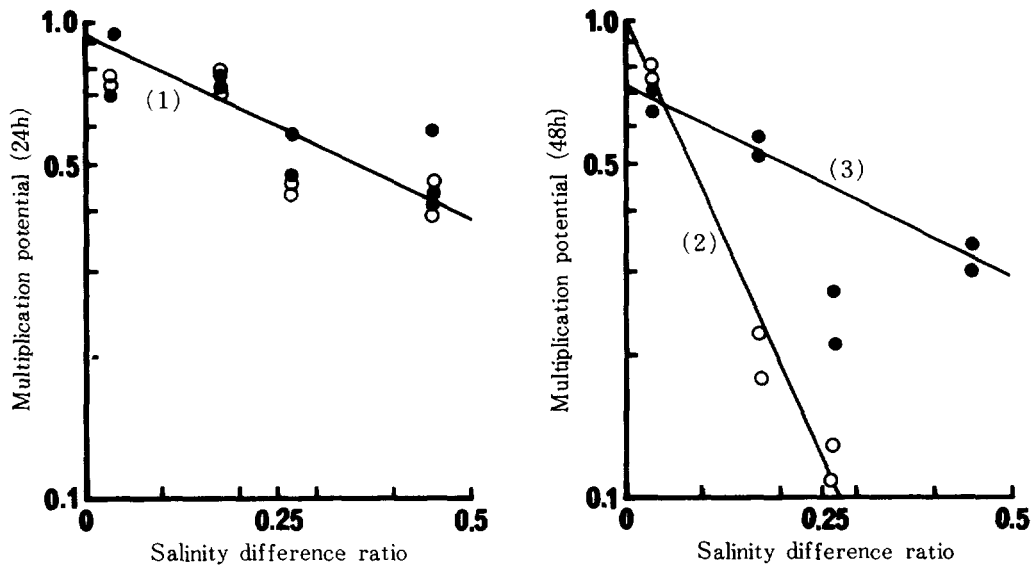


Fig. 3. The relationships between multiplication potential ($M=A_i/A_o$, A_i : appearance ratio of normal cells at S_i ; A_o : appearance ratio of normal cells at S_o) of *C. antiqua* and salinity difference ratio (S_o-S_i/S_o , S_o : initial salinity; S_i : changed salinity). Open circle: 25°C culture; Solid circle: 18°C culture; (1): $M=94.6e^{-1.823S}$
 (2): $M=74e^{-1.877S}$; (3): $M=100e^{-8.303S}$

地における平均増殖率0.5/日を基礎として増殖率を求めると、0.4, 0.35, 0.2 (一日当たり) が得られる。

培養塩分変化の48時間後における *C. antiqua* の増殖能力については培養時の温度条件が大きく影響している。この原因については後に言及することとし、ここではとりあえず培養温度別に関係式を求めると、培養温度18°Cにおける増殖能力(M)と塩分変化率(S)は $M=74.0e^{-1.877S}$ の関係式で表わされる。ただし、この関係式の算出に当っては、塩分変化率0.27 (塩分23.7%) に対応するMの値 (2個) がいずれも異常に低く、この塩分での実験において検鏡計測時の作業に失敗のあった可能性が大きいと判断されるので、これら2個の値を除外して求めた。この関係式から *C. antiqua* の増殖能力は、塩分変化率0.1 (培地塩分 29.3%) では0.6, 塩分変化率0.2 (培地塩分 26.0%) では0.5, 塩分変化率0.45 (培地塩分 17.8%) では0.32である。すなわち、*C. antiqua* の増殖能力は、18°C培養時の生息環境塩分の10%低下によって48時間後では60%に、塩分の20%低下では50%に、塩分の50%低下では30%に低下することを示しており、塩分変化前の基準培地 (塩分33%) における増殖率0.5/日はそれぞれ0.3, 0.25, 0.15 (一日当たり) に低下する。

培養温度25°Cにおける *C. antiqua* の増殖能力は塩分変化の増大と反対に急激に低下しており、その関係は $M=100.0e^{-8.303S}$ の式で表わされる。この式から *C. antiqua* の増殖能力は、塩分変化率0.1では0.45, 塩分変化率0.2では0.2, 塩分変化率0.27では0.11になり、塩分変化率0.3以上 (塩分 22.8%以下) では紡錘形細胞の出現は認められない。すなわち、その増殖能力は、塩分の10%低下では50%に、塩分の20%低下では20%に、塩分の30%低下では10%に低下し、それ以下

Chattonella antiqua と塩分

では増殖能力は0に等しく、初期の増殖率0.5/日はそれぞれ0.225, 0.1, 0.055になり、23.7%への変化では約20日間に1回の分裂になり、22.8%以下への変化では分裂は起きない。

以上のことから *C. antiqua* の増殖は、18℃より25℃の温度が適し、逆にこの好条件で環境変化の影響を大きく受け易いことを示している。

考 察

Chattonella antiqua の栄養細胞は環境変化の影響を受け易い特性があり、それは細胞形態の変化にも現われる。この特性を考慮し、本研究では塩分変化に対する形態変化を試験し、その特性を追求した。塩分32.52%の培地で培養した *C. antiqua* 細胞は、9.0%以下の培地に接種された時、直ちに壊れ始め、24時間には完全に死滅した。*C. subsalsa* も塩分約10%では48時間に完全に死滅することが報告されている (BIECHELER, 1936)。*C. antiqua* 栄養細胞の48時間の半致死塩分は約13%であった。本種は塩分18%の培養では全細胞が球形に変化しており、この状態から環境に適応して再び増殖型の紡錘形細胞になるには長時間を要するものと考えられる。塩分22%の淡水添加培養液で培養した *C. antiqua* も、小野ら (1978) によると高鹹培地培養に比較し、培地への適応、増殖にかなりの期間を要している。塩分27%培地培養では2~6日間にその細胞の5~6割が中間型の楕円形に変化しており、この期間が塩分変化に対する本種の適応期間であり、それは約1週間を要するものとみられる。初期条件に近い塩分31%培地への接種では、本種の細胞形態が紡錘形から楕円形、球形に一時的に変化するが、24時間後にはほとんど原形に復し、その適応期間は約2日とみられる。

播磨灘北部の植物プランクトンは渦鞭毛藻—珪藻—*Chattonella antiqua*—渦鞭毛藻の順に優占種が変化する傾向を示す (小野 1981) が、1980の夏季には *C. antiqua* などの渦鞭毛藻が増殖せず、珪藻類の *Skeletonema* が卓越した。この年の夏には水温が平年より1~3℃低いこと以外、栄養塩、水温、照度などは藻類増殖に充分であった (古賀・村上 1981) が、夏季の降雨量は多く、またその間隔も短かった。そのため、*C. antiqua* には本研究におけるその特性からみて環境の塩分変化に対する適応期間がなかったものと考えられる。もしこの期間が充分にあれば、*C. antiqua* は低塩分においても増殖する種であり (池田 1971, 岩崎 1971, 野沢 1978, 小野他 1978), 更に、1969及び1970年の広島湾のように降雨後にその増殖がみられた事例 (木村他 1973) もある。この他、湾奥及び沿岸域に出現し、赤潮を形成する鞭毛藻類の *Heterosigma*, *Olisthodiscus* などの増殖時における3-7日前における降雨が観察されている (飯塚 1968, 岩崎 1968, MAHONEY et al 1979, TOMAS 1978)。

このような環境変化に対する *C. antiqua* 群の適応期間の増殖率は、その変化前の増殖率と変化後の増殖能力 (M) の積である。例えば、*C. antiqua* 増殖率は培養系では今井 (1982) と本報、自然環境では吉松 (1979) の報告から0.5とみられる。これから水温25℃の時、*C. antiqua* の環境の塩分が約10%低下した時、その増殖率は24時間後には40%に、48時間後には25%に低下すると考えられる。降雨後、海域の塩分低下及び回復の状態は降雨量に関係した再現性があり、

古 賀

この海域の特性を把握しておけば、その海域における *C. antiqua* の出現数及び細胞形態からその個体群の短期変動が予測できると考えられる。

摘 要

赤潮生物の増殖と降雨間に複雑な関係がみられる中で、環境の塩分変化について *Chattonella antiqua* の形態と増殖への影響を実験的に究明した。

各種塩分培地に接種した *C. antiqua* 細胞（保存培地塩分 32.52%，水温 18℃と25℃）は、0～5%培地では直ちに球形に変化し、壊れ、6～9%培地では24時間内に全細胞が、12%培地では24時間に約4割、48時間に約6割が死滅した。

塩分18～31%培地培養では細胞は死滅せず、そのストレスに温度の影響がみられた。18%培地の紡錘形細胞は2日間に楕円形に、6日後には球形に変化した。31%培地では接種後2日間に紡錘形細胞の出現率は約7割に低下し、これと球形細胞1割の状態が継続した。*C. antiqua* は24%培地では18%培養の傾向を、27%培地では18と31%培養の中間の傾向を示した。

C. antiqua の増殖率を塩分及び紡錘形細胞出現率の変化によって推定した。この増殖率は、塩分の約3割低下の時、24時間に初期の5.5割に、48時間の18℃培養では約4割に低下する。48時間の25℃培養では塩分の3割低下の時、その増殖率は1割になり、3割を超す塩分低下では紡錘形細胞が出現せず0に等しくなった。

文 献

- 秋月友治・北角 至・佐々木正雄, 1980: 播磨灘南部海域における赤潮発生環境に関する研究. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和54年度研究成績報告書, 南西水研他, pp. 71-84.
- BIECHELER, B., 1936; Sur une Chloromonadine nouvelle d'eau saumatre *Chattonella subsalsa* n. gen., n. sp.. Arch. Zool. Exper. Gen., 78(2), 79-83.
- 羽田良禾, 1972: 広島沿岸域の赤潮プランクトン(鞭毛虫類について). 広島水試, 28pp.
- 飯塚昭二・入江春彦, 1968: 1966年長崎県下に発生した赤潮現象と赤潮プランクトン *Olisthodiscus* の生態観察. 長大水産学部研究報告, 26, 25-35.
- 池田武彦, 1971: 赤潮プランクトンに関する研究—Ⅲ 海産ミドリムシの栄養生理について. 山口内海水試報告, 2, 4-7.
- 今井一郎, 1982: 増殖促進に有効な物質の赤潮生物への取り込みに関する研究—赤潮生物の増殖と海洋細菌の関係—. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和58年度研究成績報告書, 南西水研他, pp. 77-86.
- 岩崎英雄・藤山虎也・山下英次, 1968: 赤潮鞭毛藻に関する研究—I. 福山沿岸水域に出現した *Entomosigma* sp. について. 広大水畜産学部紀要, 7(2), 259-267.
- 木村知博・溝上昭男・橋本俊将, 1973: 漁業被害をもたらした広島湾の赤潮: その発生状況と発生環境, 日本プランクトン学会誌, 19(2), 82-112.
- 古賀文洋・村上彰男, 1981: 発生前及び極初期におけるプランクトンとその現象に関する研究. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和55年度研究成績報告書, 南西水研他, pp. 7-17.

Chattonella antiqua と塩分

- MAHONEY, J. B. and J. J. A. McLAUGHIN, 1979; Salinity influence on the ecology of phytoflagellate blooms in lower New York Bay and adjacent waters. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 37, 213-223.
- 野沢治治, 1978: 赤潮生物の生理生態学的研究 1. 鹿児島湾の赤潮鞭毛藻 *Hornellia* sp. の生育条件. 鹿児島湾赤潮発生原因調査研究報告書—昭和52年6月発生の *Hornellia* 赤潮—. pp. 69-76.
- 小野知足・吉松定昭・山田達夫, 1978: ホルネリアの生育条件と形態. 昭和52年度に発生したホルネリア属赤潮に関する総合調査報告書. pp. 35-51.
- ONO, C. and H. TAKANO, 1950: *Chattonella antiqua* (HADA) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. *Bull. Tokai Reg. Fish. Lab.*, 102, 93-99.
- 小野知足, 1981: 1979年夏の *Chattonella antiqua* (HADA) ONO 赤潮発生前後の植物プランクトン相の変動. 昭和54年度赤潮予察調査報告書, 水産庁他, pp. 11-14.
- 竹内照文・芳養晴雄, 1981: 田辺湾の赤潮—I 発生傾向と環境について. 昭和54年度赤潮予察調査報告書, 水産庁他. pp. 59-74.
- TOMAS, C. R., 1978: *Olisthodiscus luteus* (Chrysophyceae) I. Effects of salinity and temperature on growth, mortality and survival. *J. Phycol.*, 14, 309-313.
- 吉松定昭, 1979: 赤潮時の平均世代時間. 昭和53年発生ホルネリア赤潮に関する調査報告書, 香川県. pp. 57-63.