

## 1984年4月、播磨灘における海底泥中の *Chattonella* 耐久細胞の分布

今井 一郎・伊藤 克彦

### Distribution of Dormant Cells of *Chattonella* in Bottom Sediments of Harima-Nada, Eastern Seto Inland Sea, in April, 1984

Ichiro IMAI and Katsuhiko ITOH

Distribution of dormant cells of *Chattonella* (Raphidophyceae) in Harima-Nada, eastern Seto Inland Sea, was investigated by the extinction dilution method using bottom sediment samples collected in April, 1984.

Five types of *Chattonella* were observed including a new type which was apparently different from *C. antiqua* and *C. marina*.

Densities of dormant cells in the sediment samples ranged from 5 to 316 cells·cm<sup>-3</sup> (average 57). Highly accumulated areas were found in southern, eastern-central, and north-western parts of Harima-Nada. In shallow, coastal area of northern Harima-Nada where dense red tides of *Chattonella* have often been reported in summer, the number of dormant cells was rather scarce. Densities of dormant cells tended to be lower at the stations with coarse sediments. While, fine sediments seemed to be at least essential for the abundant presence of dormant cells, although low densities were also found on such stations.

In late September when *Chattonella* red tide was over, the numbers of dormant cells, which were able to germinate at that time, were remarkably few at two stations (Sts. 12 and 16) as compared with April. It is therefore suspected that dormant cells of *Chattonella* in Harima-Nada are the substantial seed population for the red tide there.

播磨灘における *Chattonella* 赤潮は1972年の夏に初めて大規模に発生して以来、1977年から3年連続、さらには1982年以降にも発生し、養殖魚類に大きな被害を与えている。これらの漁業被害を防止するためには、*Chattonella* の生活史と赤潮を形成する機構を解明することが重要である。

秋月他(1981)は、播磨灘の海底泥試料を冷暗所に保存した後、培養液中に懸濁して数日間培養すると、*Chattonella* の栄養細胞が出現することを初めて確認した。このことは、*Chattonella* が海底泥中でシスト等の耐久細胞の状態越冬することを示している。

渦鞭毛藻類の場合、ラフィド藻に比べると多くの種で有性生殖過程が明らかにされ(WALKER 1984)、その結果生じたシストが毎年起こる赤潮の Seed population として重要な役割を果たして

いることが指摘されている (飯塚・入江 1972, WALL 1975, STEIDINGER 1975, ANDERSON and WALL 1978)。シストの休眠や発芽についての生理学的研究は増加しつつあるが (例えば ANDERSON 1980, 遠藤・長田 1984, SAKO *et al.* 1985), 海域におけるシストの分布を定量的に明らかにした研究は非常に少ない (小林他 1981, WHITE and LEWIS 1982, ANDERSON *et al.* 1982)。これは、海底泥試料中にシスト以外の粒子が非常に多く存在し、特徴的な形態のシストでなければその同定・計数が難しいだけでなく、顕微鏡下の作業であるために、多くの労力と時間を必要とすることに起因するものと思われる。

ラフィド藻に属する *Chattonella* に関しては、耐久細胞が存在することは疑いのないにもかかわらず、その形態は未確認であり、休眠や発芽等の生理ならびに地理的分布についての知見も乏しい。近年、著者等 (今井他 1984) は海底泥試料を培養し、発芽して出現した栄養細胞数を計数する方法を用いて、耐久細胞の大きさ、発芽温度および1983年4月の播磨灘における分布を調べた。その後計数方法に改良を加え、終点希釈法 (MPN法) が海底泥中の耐久細胞の計数に有効であることを明らかにした (IMAI *et al.* 1984)。

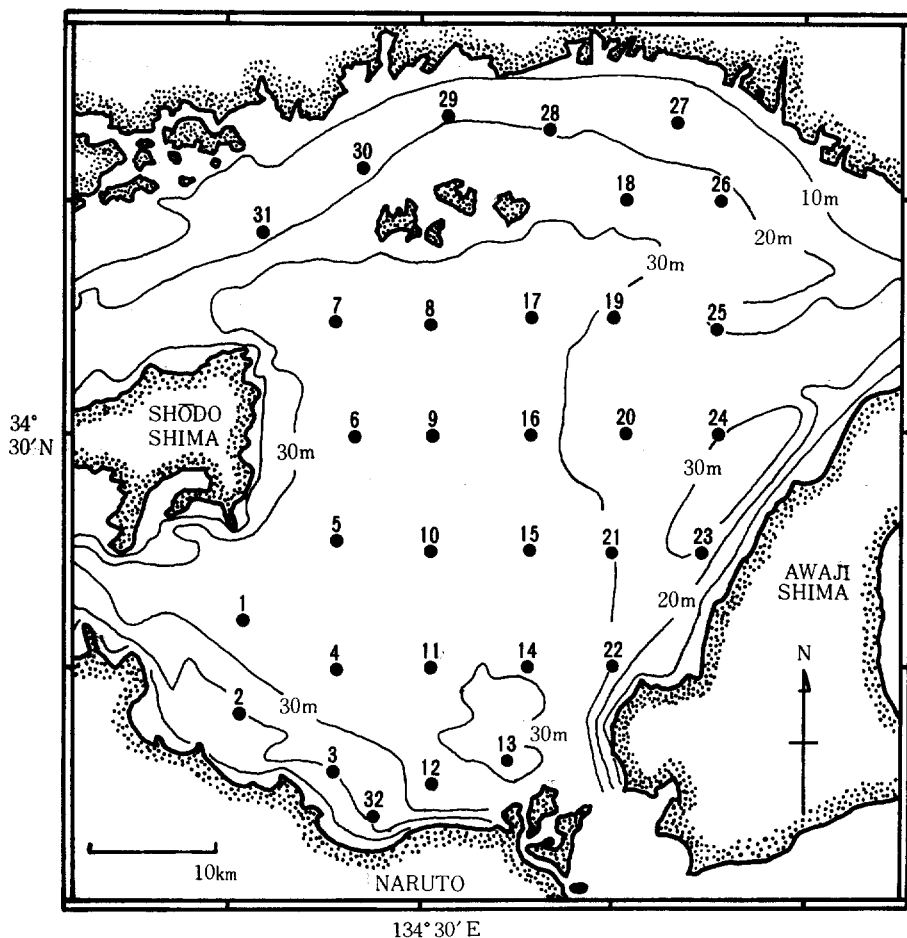


Fig. 1. Location of the sampling stations in Harima-Nada, eastern Seto Inland Sea.

本報告では、この方法を用いて調べた、1984年4月の播磨灘における *Chattonella* 耐久細胞の地理的分布について述べる。

### 材料および方法

#### 1. 海底泥試料の採集と保存

1984年4月23—25日に、Fig. 1に示す播磨灘の32定点において、KK式柱状採泥器(内径4 cm)(木俣他 1960)を用いて採泥を行なった。試料は表面から3 cm深までをプラスチック容器に採取し、温度11℃の小型の低温恒温庫に収納して実験室に持ち帰った。採泥時の底層水温は8.2—10.6℃であったが、以後試料は温度11℃の低温恒温庫中に暗所保存した。

#### 2. 耐久細胞の計数

*Chattonella* 耐久細胞の計数は終点希釈法 (IMAI *et al.* 1984) によって行なった。操作手順の概略を Fig. 2に示す。秤量した適量の試料 (1—1.5 g) を沓過海水中に懸濁し、超音波処理(トミー精工UR-20Pによる)を行なった後、目合い100 $\mu$ mおよび20 $\mu$ mのナイロン網地の篩を用いて20—100 $\mu$ mの粒径画分を得た。この画分を沓過海水中に再懸濁させ、分画処理前の湿重量に換算して0.1g $\cdot$ ml<sup>-1</sup>になるように定容し、10<sup>0</sup>懸濁液とした。沓過海水によってこれを順次10倍希釈して10<sup>-1</sup>と10<sup>-2</sup>の希釈段階の懸濁液を調製し、各懸濁液を1 mlずつ5本の試験管に接種した(したがって1試料につき合計15本の試験管を用いることになる)。さらに、これらの試験管に沓過海水を1 mlずつ加えて総量を2 mlにした後、温度22℃、照度3,500lx、14時間明—10時間暗の光条件下で培養を行なった。

9—12日後、各試験管における *Chattonella* 栄養細胞の出現の有無を顕微鏡で調べ、出現したものは陽性、しなかったものは陰性として記録した。つぎに、各希釈段階における陽性数の組み

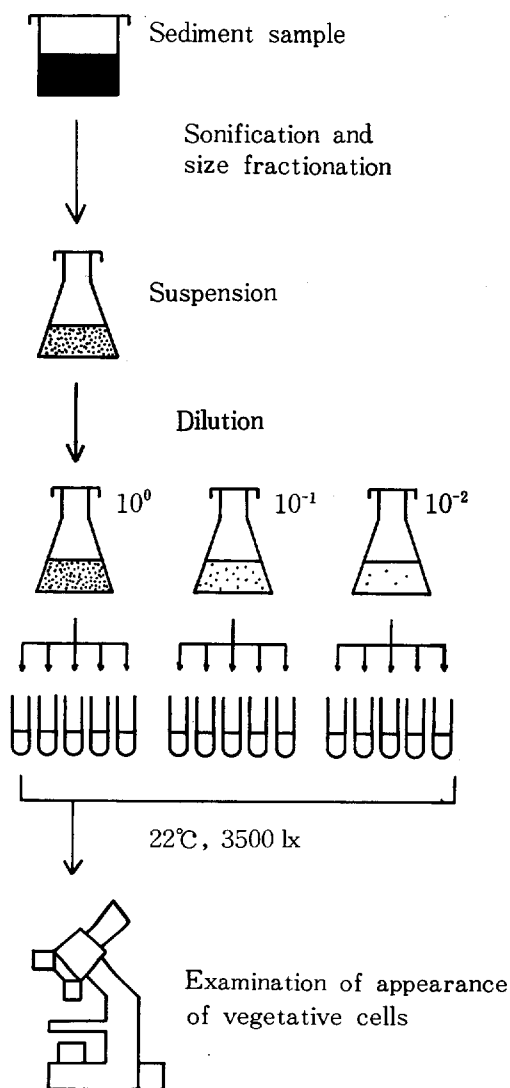


Fig. 2. Process of the extinction dilution method for enumeration of dormant cells of *Chattonella* in the bottom sediment samples.

合わせから最確数表 (例えば THRONDSSEN 1978) を参照して、海底泥 1 g 中の耐久細胞の最確数 (MPN) を決定した。1 cm<sup>3</sup> の試料中の耐久細胞数は、この値に泥試料の見かけの比重を乗じて求めた。一方、250メッシュ (63μm) 以下の泥含有率も測定した。

なお、本研究で用いた汚濁海水は、研究所地先の海水をワットマン GF/C ガラス繊維濾紙で濾過後、オートクレーブによって滅菌したものである。

## 結 果

### 1. 海底泥から出現した *Chattonella* 栄養細胞について

終点希釈法による *Chattonella* 耐久細胞の計数は培養を基本とするため、5 タイプの *Chattonella* 栄養細胞を観察することができた (Fig. 3)。最も普通に観察されたのは *Chattonella marina* (SUBRAHMANYAN) HARA et CHIHARA と *C. antiqua* (HADA) ONO (原・千原 1982) の両種であった (Fig. 3, A, B)。また、時々“わらじ形”と通称されるものも観察された (Fig. 3, C)。ここでいう“わらじ形”は、*C. antiqua* の小形の細胞程度の大きさで、後端部の細長い尾部を欠き、外部形態では *C. marina* の大形細胞のような印象を与える。この他に、長径30μm 以下の“小形”のものがまれに観察された (Fig. 3, D)。これは細胞径が小さく、色調は薄く、外部形態から判断すると *C. marina* に類似していた。最後に、以上の4つの他に極めてまれに認められたタイプのもものが2回観察された。大きさは *C. antiqua* と類似するが、葉緑体は細胞内に散在し、その数も著しく少ないのが特徴である (Fig. 3, E)。

本研究においては、以上5つのタイプのもものを *Chattonella* として取り扱った。このうち *C. marina*, *C. antiqua* および“わらじ形”を除く2つのタイプはまれにしか観察されず、終点希釈法による耐久細胞の計数値にほとんど影響を与えなかった。

他に Raphidophyceae の仲間では *Fibrocapsa japonica* TORIUMI et TAKANO (TORIUMI and TAKANO 1973) が時折観察された。なお、球形 *Chattonella* (原・千原 1983) は認められなかった。

### 2. 耐久細胞の分布

Fig. 4 に播磨灘における耐久細胞の分布を示す。分布密度は水域によって異なり、海底泥 1 cm<sup>3</sup> あたり最小は5、最大は316細胞・cm<sup>-3</sup>であった。3 cm深までの 1 m<sup>2</sup>あたりの分布密度に換算すると、前者は $1.6 \times 10^5$ 、後者は $9.5 \times 10^6$  細胞・m<sup>-2</sup>となる。50細胞・cm<sup>-3</sup>以上の高密度域は灘中央部の淡路島寄りの水域、香川県境に近い徳島県沿岸、および家島諸島西方の兵庫県西部沿岸で認められた。10細胞・cm<sup>-3</sup>以下の低密度域は、四国側の St. 32 と兵庫県側の St. 29 であった。他の多くの定点は10—50細胞・cm<sup>-3</sup>の値を示した。播磨灘全域における分布密度の単純平均値は約 57細胞・cm<sup>-3</sup>であり、1 m<sup>2</sup>あたり $1.7 \times 10^6$  細胞と試算される。

泥分率 (63μm 以下の粒子) と耐久細胞の分布密度の関係は Fig. 5 に示すように、泥分率が低い場合には耐久細胞の分布密度も低い傾向がみられた。これに対して泥分率の高い場合には、耐

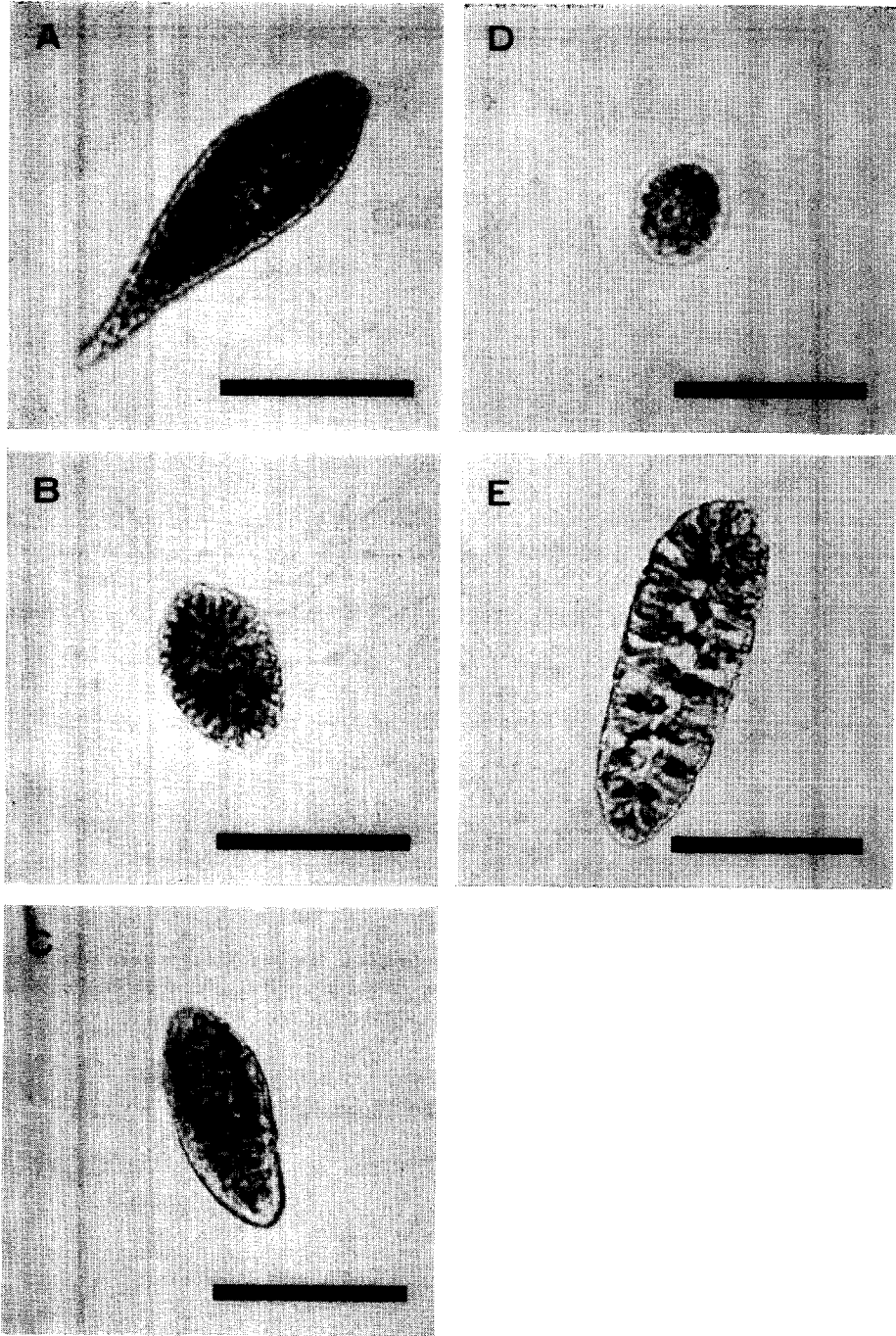


Fig. 3. Microphotographs of five types of *Chattonella* observed. Bars, 50 $\mu$ m.  
A : *Chattonella antiqua* (HADA) ONO  
B : *C. marina* (SUBRAHMANYAN) HARA et CHIHARA  
C : Type Waraji. The size is larger than *C. marina*. The posterior end of the cell is roundish as compared with *C. antiqua*. Waraji means the shape of straw sandal in Japanese.  
D : Type mini. The size is smaller than *C. marina*.  
E : New type. Although the size is similar to *C. antiqua*, chloroplasts are scattered in the cell.

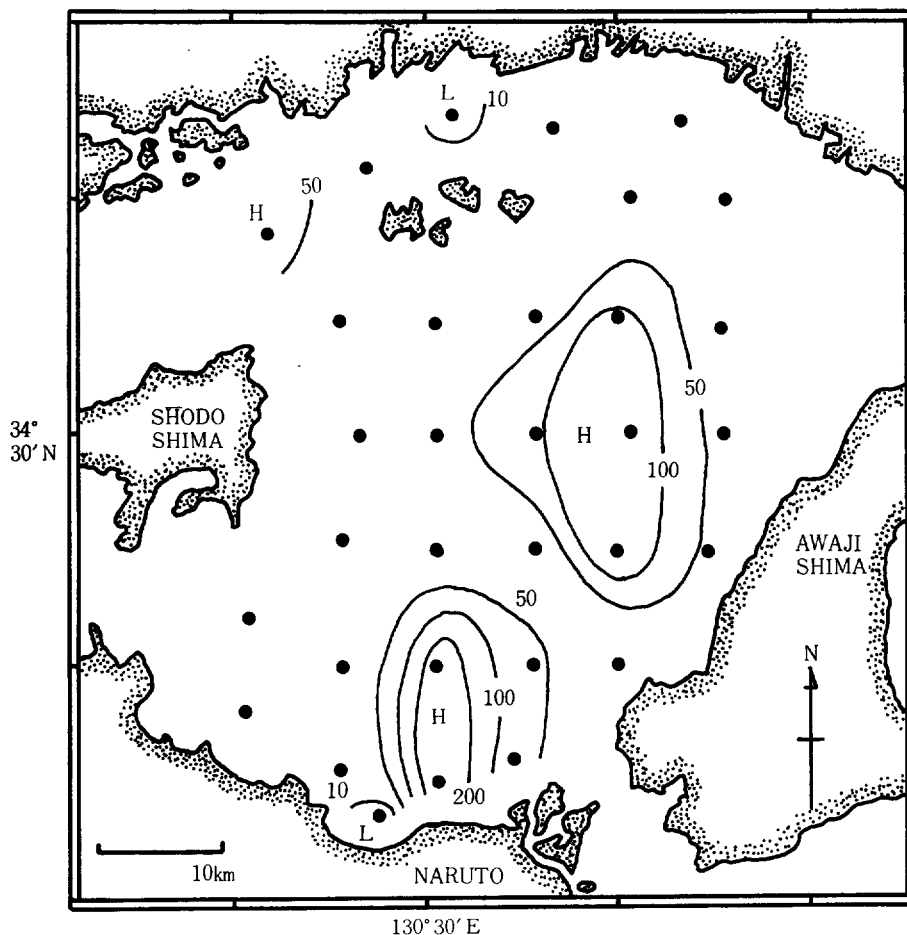


Fig. 4. Distribution of dormant cells of *Chattonella* in Harima-Nada, eastern Seto Inland Sea, enumerated by the extinction dilution method. Numerals indicate the number of dormant cells per cubic centimeter wet sediment.

久細胞の分布は大きく変動している。しかし、耐久細胞が高密度で存在するためには、少なくとも高い泥分率であることが必要条件のようである。

## 考 察

本研究で用いた終点希釈法は海底泥試料の培養が基本になるので、計数対象は発芽可能な耐久細胞である。したがって、耐久細胞の総数は計数できず、発芽率は測定できない。しかし、耐久細胞の中で発芽可能なものを計数しているので、実質的な **Seed population** を把握できるものと考えられる。

実験中に出現した *Chattonella* の栄養細胞は、Fig. 3 に示す5つのタイプに分けられたが、この中で“わらじ形”の出現はかなりあるので、その位置付けが以後重要になると思われる。

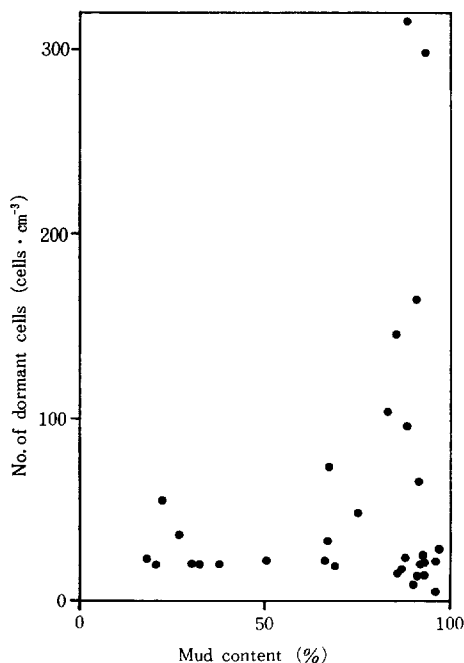


Fig. 5. Relationship between the number of dormant cells of *Chattonella* and mud content (<63  $\mu\text{m}$ ) in Harima-Nada.

“わらじ形”は、大きさを重視すれば *C. antiqua* が形態変化したものと解釈できるが、細胞後端の細長い尾部の有無を重視するなら *C. marina* の大形細胞とも解釈できる。さらに、*C. antiqua* と *C. marina* はともに形態や大きさの変異が著しいため、培養等を通じて分類学的な検討を要する課題であろう。ちなみに、“わらじ形”の細胞は1984年7月の周防灘ではかなり高頻度で観察された(今井・伊藤 未発表)。“小形”のものは外部形態が *C. marina* に類似し、場合によっては *C. marina* の小形細胞と区別しにくかった。しかし、*C. marina* と比べればやや色調が薄いようである。このタイプについても今後検討が必要と思われる。5番目のタイプのもの (Fig. 3, E) は、葉緑体の存在様式から明らかに *C. antiqua* や *C. marina* とは異なっているので、分類学的に詳しく検討する必要がある。

1984年4月の播磨灘における *Chattonella* 耐久細胞の分布密度は場所によって変動し、高密度に集積されている水域が認められた。計数方法に違いはあるが、1983年4月の分布(今井他 1984)と比較すると、灘中央部と南部に高密度水域が存在するという概略的な傾向は一致している。しかし詳細に検討すると、1984年の高密度域は南部でやや東と北に広がり、中央部では淡路島寄りに移っていた。一般的に、潮流の平均値である恒流は物質の移動・集積に大きな影響を与えるといわれ(柳・樋口 1979)、カナダ東部海岸のファンデー湾における *Gonyaulax excavata* のシストの高密度域は、環流の位置とよく一致するという(WHITE and LEWIS 1982)。したがって、*Chattonella* の耐久細胞についても同様に流れの影響を受けると推察されるが、現時点では明らかでない。しかし、耐久細胞は運動性がないと考えられるので、高密度域はやはり環流域や海水の停滞する水域に相当するものと推察される。ちなみに、南部の高密度域は海水が集束する傾向のある水域といわれている(深瀬他 1981)。

播磨灘で濃密な *Chattonella* 赤潮が発生する水域は、一般に北部沿岸域、中央域、および南部の四国沿岸域であるとされている(岡市他 1983)。赤潮の発生には潮流や風による集積作用も重要であるので(吉田・沼田 1982 a, b)単純には論じられないが、中央部と南部水域(特に徳島県沿岸)は、赤潮の発生する水域と耐久細胞の高密度域がおおむね一致している。一方、北部の兵庫県沿岸域は耐久細胞の密度が低かった。それにもかかわらず、この水域では、赤潮の発生時期が早いうえに濃密であり、継続期間も長い(岡市他 1983)という報告がある。これは、水深の浅い北部沿岸域では底層水温の上昇が水深の深い灘中央部や南部に比べて早く、耐久細胞が早期に発芽するものと考えられ、これに加えて灘中央部起源の *Chattonella* が、その後も継続的

に潮流や風（とくに南寄りの風）によって北部沿岸域へと増殖しつつ集積された結果であると推察される。また北部沿岸域でも、北西部が *Chattonella* 赤潮の発生点である可能性が高いという指摘がなされているが（岡市他 1983）、家島諸島西部に若干高密度域が存在することは（Fig. 4）、Seed population を考えるうえで興味深い。

1984年の *Chattonella* 赤潮の終息した後9月19日に、St. 12と16から採泥して1 cm深までの試料を用いて耐久細胞を計数し、St. 12で13細胞・g 湿泥<sup>-1</sup>、St. 16で4.5細胞・g 湿泥<sup>-1</sup>の結果を得た（今井・伊藤 未発表）。同じ定点の4月の値（3 cm深までの試料、St. 12で240細胞・g 湿泥<sup>-1</sup>、St. 16で79細胞・g 湿泥<sup>-1</sup>）と比較すると、この時点での発芽可能な耐久細胞数は著しく少ない。これは、春季に存在していた発芽可能な耐久細胞の大部分が夏季に発芽してしまったためであろう。したがって、播磨灘においては *Chattonella* 耐久細胞のほとんど大部分が実質的な Seed population となっているものと考えられる。今後、*Chattonella* のたね場の経年変動と形成過程を、潮流や風と関係付けて実証的に明らかにすることが重要な課題である。

## 摘 要

1984年4月に播磨灘の32定点において海底泥試料を採集し、終点希釈法によって *Chattonella* 耐久細胞数を計数した結果、下記の知見を得た。

1. 実験中に出現した *Chattonella* には、5タイプが観察された。すなわち、*Chattonella marina* (SUBRAHMANYAN) HARA et CHIHARA, *C. antiqua* (HADA) ONO, “わらじ形”, “小形” および新種と思われるものである。

2. 耐久細胞の分布密度は5—316細胞・cm<sup>-3</sup>（平均57）であり、50細胞・cm<sup>-3</sup>以上の高密度域は、灘南部、中央部、および北西部に存在した。北部沿岸域では、耐久細胞の分布密度は低かった。

3. 泥分率（63μm以下の粒子）の低い試料においては耐久細胞数は少ない傾向を示したが、高い試料では多い場合も少ない場合もあった。

4. 春季に存在した発芽可能な耐久細胞のほとんど大部分が、夏季の間に発芽してしまっていた。したがって、播磨灘においては耐久細胞の大部分が実質的な Seed population として機能しているものと考えられる。

## 謝 辞

本研究を進めるにあたり、有益な御助言と激励を賜わった、南西海区水産研究所赤潮部長安楽正照博士に深く感謝の意を表す。また、一般海洋観測および採泥作業に御協力をいただいた、南西海区水産研究所調査船しらふじ丸の乗組員各位に、厚く御礼申し上げる。



引用文献

- 秋月友治・北角 至・吉田正雄, 1981: 播磨灘南部海域における赤潮発生環境に関する研究—II. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑制に関する研究, 昭和55年度研究成績報告書, 南西水研他, pp. 61—77.
- ANDERSON, D. M. and D. WALL, 1978: Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. J. Phycol., **14** (2), 224—234.
- 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., D. G. AUBREY, M. A. TYLER and D. W. COATS, 1982: Vertical and horizontal distributions of dinoflagellate cysts in sediments. Limnol. Oceanogr., **27**, 757—765.
- 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** (1), 23—33.
- 深瀬 茂・福岡二郎・田原恒男, 1981: 1977年暖候期における播磨灘の海洋構造とホルネリア赤潮の発生. 潜伏期における赤潮原因種挙動調査研究報告書, 水産庁, pp. 1—22.
- 原 慶明・千原光雄, 1982: 日本産ラフィド藻シャットネラ (*Chattonella*) の微細構造と分類. 藻類, **30**, 47—56.
- 原 慶明・千原光雄, 1983: ラフィド藻類. 赤潮マニュアル IV. その他の藻類, 安達六郎他編, 赤潮問題研究会分類班, pp. 55—69.
- 飯塚昭二・入江春彦, 1972: 大村湾の赤潮発生環境と発生要因. 内湾赤潮の発生機構, 花岡 資他編, 日本水産資源保護協会, pp. 35—57.
- 今井一郎・伊藤克彦・安楽正照, 1984: 播磨灘における *Chattonella* 耐久細胞の分布と発芽温度. 日本プランクトン学会報, **31**(1), 35—42.
- IMAI, I., K. ITOH and M. ANRAKU, 1984: Extinction dilution method for enumeration of dormant cells of red tide organisms in marine sediments. Bull. Plankton Soc. Japan, **31**(2), 123—124.
- 木俣正夫・河合 章・石田祐三郎, 1960: 海底泥土の採取法. 日水誌, **26**(2), 1227—1230.
- 小林 聡・松岡数充・飯塚昭二, 1981: 大村湾底泥中からの *Gonyaulax polyedra* STEIN のシストの発見. 日本プランクトン学会報, **28**(1), 53—57.
- 岡市友利・畑 幸彦・遠藤拓郎・柳 哲雄, 1983: 瀬戸内海. 海の世界科学, 平野敏行編, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 298—324.
- SAKO, Y., Y. ISHIDA, H. KADOTA and Y. HATA, 1985: Excystment in the freshwater dinoflagellate *Peridinium cunningtonii*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., **51**(2), 267—272.
- STEIDINGER, K. A., 1975: Basic factors influencing red tides. In "Proceedings of the first international conference on toxic dinoflagellate blooms". ed. V. R. LoCICERO, Mass. Sci. Tech. Found., Wakefield, MA, 153—162.
- THRODNSEN, J., 1978: The dilution-culture method. In "Phytoplankton manual". ed. A. SOURNIA, Unesco, Paris, 218—224.
- TORIUMI, S. and H. TAKANO, 1973: *Fibrocapsa*, a new genus in Chloromonadophyceae from Atsumi Bay, Japan. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. No. 76, 25—35.
- WALKER, L. M., 1984: Life histories, dispersal, and survival in marine, planktonic dinoflagellates. In "Marine plankton life cycle strategies". eds. K. A. STEIDINGER and L. M. WALKER, CRC Press, Boca Raton, Florida, 19—34.
- WALL, D., 1975: Taxonomy and cysts of red-tide dinoflagellates. In "Proceedings of the first international conference on toxic dinoflagellate blooms". ed. V. R. LoCICERO, Mass. Sci. Tech. Found., Wakefield, MA, 249—255.

- WHITE, A. W. and C. M. LEWIS, 1982 : Resting cysts of the toxic, red tide dinoflagellate *Gonyaulax excavata* in Bay of Fundy sediments. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 1185-1194.
- 柳 哲雄・樋口明生, 1979 : 瀬戸内海の恒流. 沿岸海洋研究ノート, **16**(2), 123-127.
- 吉田陽一・沼田克己, 1982 a : *Chattonella antiqua* (HADA) ONO の潮流による集積. 日本誌, **48**(9), 1271-1275.
- 吉田陽一・沼田克己, 1982 b : *Chattonella antiqua* (HADA) ONO の集積に及ぼす風の影響. 日本誌, **48**(9), 1277-1280.