

## マクロベントス（イソゴカイとシズクガイ）がアレキサンドリウムシストの鉛直分布と発芽に及ぼす影響

辻野 睦<sup>\*</sup>

### Influence on the vertical distribution and germination of *Alexandrium* spp. cysts by macrobenthic organisms [*Perinereis nuntia* (Polychaeta) and *Theora fragilis* (Mollusca)]

Mutsumi TSUJINO<sup>\*</sup>

**Abstract** Influence on the vertical distribution and germination of the resting cysts of *Alexandrium* spp. by two macrobenthos, *Perinereis nuntia* (Polychaeta) and *Theora fragilis* (Mollusca), was experimentally examined in culture sediments containing a high density of cysts.

The present results indicated that *P. nuntia* and *T. fragilis* transferred vertically the cysts in the surface sediments due to ingestion, excretion and movement. However, the cyst densities in the surface sediments decreased more than expected from the vertical transfer to the deeper layers throughout the experimental periods. The accumulative number of vegetative cells of *Alexandrium* spp. that germinated from the culture sediments with *P. nuntia* and *T. fragilis* were lower as compared with those from the control sediments without any macrobenthos. It was considered that germination was suppressed by enclosing cysts in the fecal pellets and digestion of cysts, as well as the vertical transfer of cysts to the deeper layers.

Therefore, it was suggested that the surface deposit feeders such as *P. nuntia* and *T. fragilis* have a significant role in decreasing the abundance of *Alexandrium* cysts in the surface sediments and suppressing the germination of them by the digestion, movement and enclosing in the fecal pellets.

**Key words:** *Alexandrium* spp.; Resting cysts; Vertical distribution; *Perinereis nuntia*; *Theora fragilis*

#### 緒 言

広島湾では1992年以降春季に *Alexandrium tamarense* による麻痺性の貝毒が頻繁に発生するようになった (Yamamoto and Yamasaki 1996)。広島湾北部の太田川河口域には *Alexandrium* 属のシストが高密度に堆

積している (山口ら 1995b; Tsujino *et al.* 2002)。鉛直的には表層0-3cm層に多く分布し、下層になるほど減少する (山口ら 1995b)。底泥に堆積したシストは休眠し、休眠の長さは水温や光等の様々な環境要因によって左右される (Anderson 1980; Anderson *et al.* 1987; Perez *et al.* 1998)。さらに、これらのシスト

は海底に生息する様々なベントスによって、水平分布、鉛直分布、発芽量等の点において影響をうける可能性がある (Persson 2000)。これまで底泥のシストの量的変動について、二枚貝や底生性のカイアシ類であるハルパクチクス類によるシスト捕食の影響の可能性や、バクテリアやウイルス等の寄生による変動の可能性が指摘されてきた (Persson 2000)。Persson and Rosenberg (2003) はスウェーデンの西海岸に普通に生息する二枚貝と多毛類を用いて、渦鞭毛藻類のシストの分布への影響を実験的に検討し、泥中における渦鞭毛藻類のシストの構成の違いは、その場に生息するベントスの食性の違いによって引き起こされることを示唆した。

著者らはこれまでアレキサンドリウム属シストとマクロベントスの関係について、現場調査と、イソゴカイ (*Perinereis nuntia*) とシズクガイ (*Theora fragilis*) の2種類のマクロベントスを使った室内実験で検討してきた (辻野ら 2001; Tsujino *et al.* 2002; Tsujino and Uchida 2004)。シズクガイは日本沿岸の *Alexandrium* 属シストが高密度に堆積しているような浅海域に生息し (Imabayashi and Tsukuda 1984)、イソゴカイは通常日本沿岸の干潟に (吉田 1984) 生息しているが、沿岸浅海域から単一種の多毛類を採集するのは難しいため、養殖可能であるイソゴカイを用いた。その結果、イソゴカイ、シズクガイが共にシストを摂食し、シズクガイにおいては摂食したシストの一部を消化している可能性を示した (Tsujino and Uchida 2004)。本研究においてはマクロベントスであるイソゴカイとシズクガイが、海底泥のシストの鉛直分布に及ぼす影響および海底泥からのシストの発芽に対する影響を実験的に検討した。

### 試料と方法

#### シストの鉛直分布に及ぼすイソゴカイとシズクガイの影響

*Alexandrium* 属のシスト密度が低い阿多田沖海底泥とシスト密度が高い呉湾海底泥をスミスマッキンタイヤー採泥器で採取した。採取した泥はマクロベントスを除くため目合い1mmの篩でふるい、通過した泥を実験に用いた。マクロベントスを除いた阿多田沖海底泥 (含水率77.5% *Alexandrium* 属シスト密度 67cysts/g wet weight) を5cm、その上に呉湾海底泥 (含水率78.9% *Alexandrium* 属シスト密度2,593cysts/g wet weight) を1cm入れた14 (横) × 10 (縦) × 8 (高さ) cmの容器を9個用意した。3容器ずつ、イソゴカイ飼育区、シズクガイ飼育区、対照区とし、

イソゴカイ、シズクガイ飼育区は1つの容器にイソゴカイ、シズクガイをそれぞれ20個体入れて、水温18°Cの流水系において、水槽上部を黒い遮光シートで被って無給餌で60日間飼育した。30日毎に径1.5cmのミニコアで、一つの容器から6回泥柱を採取して一サンプルとし、表層から1cm間隔でカットして各層のシスト数計数用試料とした。

#### シスト発芽に及ぼすイソゴカイとシズクガイの影響

1mmの篩でマクロベントスを取り除いた呉湾の海底泥を実験に用いた。100mlビーカーを9個用意し、各ビーカーに湿重約20gの (含水率78.9% *Alexandrium* 属シスト密度2,306cysts/g wet weight) 泥を加えた。そのうち3個はマクロベントスを入れない対照区とし、3個をイソゴカイ飼育区、残り3個をシズクガイ飼育区として、それぞれ1容器あたり3個体のイソゴカイとシズクガイを収容した。各ビーカーに90mlの濾過海水を満たし、12.5°C、照度14.2  $\mu$  mol photons / m<sup>2</sup> / s、12時間の明暗周期で1か月培養した。その間、2~4日毎に泥の上澄みの全濾過海水を入れ替えた。取り除いた海水は1%のグルタールアルデヒドで固定、静置した後、10mlに沈澱濃縮して *Alexandrium* 属の遊泳細胞を計数した。飼育終了後、各飼育区の泥と対照区の泥を回収して、泥中のシスト密度計数用の試料とした。

泥中シストの計数は、各試料から湿泥5gを採って濾過海水に懸濁し、超音波で1分間処理した後、20  $\mu$  mの目合いで篩って、篩上のシストを集め、プリムリン染色した後 (Yamaguchi *et al.* 1995a)、蛍光倒立顕微鏡 (OLYMPUS IX70) 下で行った。

両実験に使用したイソゴカイは、養殖されているイソゴカイを購入して飼育した0.1g (湿重) 前後の物を用いた。シズクガイは広島湾の底泥から採取した0.8cm前後の個体を用いた。

### 結 果

#### シストの鉛直分布に及ぼすイソゴカイとシズクガイの影響

飼育開始後30日目と60日目のイソゴカイ、シズクガイ飼育区および対照区の泥中における *Alexandrium* 属シストの鉛直分布を Fig.1に示した。

30日目のイソゴカイ飼育泥では、0-1cm層の平均シスト密度は対照区泥の72%となったが、有意な差ではなかった。しかし、0-1cm層より下層の全ての層において対照泥よりもシスト密度が高くなった (t検定  $p < 0.05$ )。これに対してシズクガイ飼育泥では、

表層0-1cm層のシスト密度は対照泥の27%まで低下し ( $p < 0.02$ ), 1-2cm層では, シスト密度の増加が認められた ( $p < 0.001$ )。しかし, 2cmより下層においてシスト密度の有意な増加は認められなかった。

60日目のイソゴカイ飼育泥では, 0-1cm層のシスト密度は対照泥の25%まで低下した ( $p < 0.001$ )。1-2cm層のシスト密度は対照泥と変わらなかったが, 30日後のシスト密度よりも低下した ( $p < 0.001$ )。2-3cm層のシスト密度は対照泥のシスト密度に対して有意に高かった ( $p < 0.1$ ) が, それより下層においては対照泥のシスト密度に対して有意な差は認められなかった。60日目のシズクガイ飼育泥では, 0-1cm層のシスト密度は対照泥の27%に低下した ( $p < 0.001$ )。1-2cm層では対照泥シスト密度の57%まで低下したが有意な減少ではなかった。2-3cm層のシス

ト密度は対照泥のシスト密度の約6倍となり, 有意に高かった ( $p < 0.01$ )。それより下層においては対照泥のシスト密度に対して有意な差は認められなかった。

シスト発芽に及ぼすイソゴカイとシズクガイの影響

対照泥, イソゴカイおよびシズクガイ飼育泥における飼育泥直上水中の *Alexandrium* 属遊泳細胞数の累積変化を Fig. 2に示した。対照泥から発芽して直上水中に確認された遊泳細胞数の増加速度は, 飼育開始から3日目までは0.7 cells/day, 3~6日目までは1.3 cells/dayとなったが, 6~9日目までは8.0 cells/day, 11, 13, 15, 17日目では6~11.5 cells/day前後となり, それ以後減少した。それに対し, イソゴカイ飼育泥の直上水中に確認された遊泳細胞数は非常に少なく, 3日目までは検出されなかった。その増加

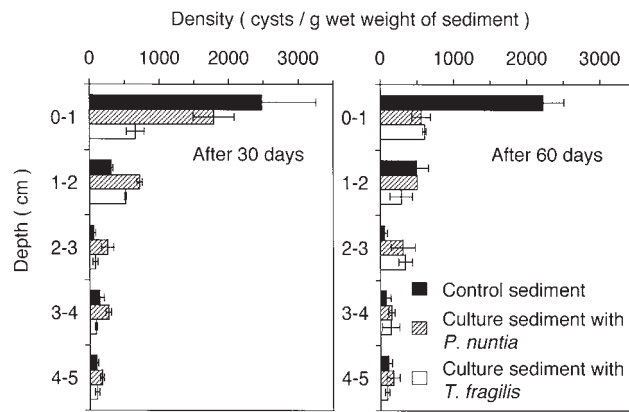


Fig. 1. Vertical distribution of *Alexandrium* spp. resting cysts in the culture sediment with *Perinereis nuntia* and *Theora fragilis*.

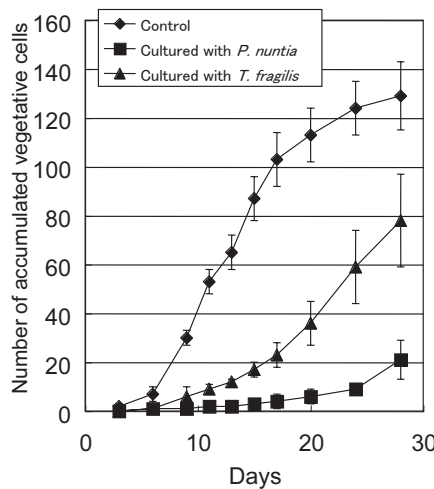


Fig.2. The fluctuation on the accumulated number of vegetative cells of *Alexandrium* spp. in the supernatant water of sediment cultured with *Perinereis nuntia* and *Theora fragilis*.

**Table 1.** Comparison of the number of cysts in the sediment at the start and the finish (30 days later) of the germination experiment

		Number of cysts ( ind. / beaker )	Two-sample t-test
Start		57,734 ± 6,017	
Finish	Control sediment	54,775 ± 2,700	ns $p>0.1$
	Sediment with <i>P. nuntia</i>	50,316 ± 1,914	ns $p>0.1$
	Sediment with <i>T. fragilis</i>	39,375 ± 2,199	$p<0.002$

ns: not significant

速度は3日目以降も低く、24日目までは0.3~1 cells/day, 24~28日目には3cells/dayとなった。シズクガイ飼育泥では3日目まで遊泳細胞数は検出されず、6日目以降の増加速度は17日目まで0.3~3cells/dayとなり、20~28日目までは4.3~5.6cells/dayとなった。各実験泥における飼育直上水中の累積遊泳細胞数は対照泥が $129 \pm 11$ cells, イソゴカイ飼育泥では $21 \pm 6$ cells, シズクガイ飼育泥では $78 \pm 15$ cellsであった。

飼育開始時および飼育終了時における、各飼育区の泥中シスト密度から計算した全シスト数をTable 1に示した。対照泥中のシスト数は、飼育開始時と飼育終了時では有意な差は認められなかった。イソゴカイ飼育泥については、実験終了時のシスト数は対照泥の87%まで減少したが、統計的には有意な差ではなかった。シズクガイ飼育泥については、実験終了時のシスト数は対照泥の68%まで統計的に有意に減少した ( $p < 0.002$ )。

## 考 察

表層堆積物食者である2種類のベントス、イソゴカイとシズクガイの生息活動が、麻痺性貝毒の原因プランクトンである *Alexandrium* 属シストの海底泥中における鉛直分布および海底泥からのシストの発芽に及ぼす影響を実験的に検討した。二つの実験で設定したイソゴカイおよびシズクガイの密度 (1200~1600 個体/m<sup>3</sup>) は、高密度であるが、それぞれ多毛類、二枚貝類の密度とすると、広島湾においては時期によって認められる密度であり、広島湾の二枚貝の大部分はシズクガイである (辻野ら 2001)。

イソゴカイおよびシズクガイ飼育泥における *Alexandrium* 属シストの鉛直分布は、30日目に1-2cm層のシスト密度の有意な増加が認められた。また、イ

ソゴカイ飼育泥では2cm層より下層のシスト密度も上昇した。このことから、イソゴカイおよびシズクガイの摂食、排泄、移動等の活動によって、シストは表層から下層へ運ばれること、また、その運搬能力はイソゴカイの方が大きく、より早く深い層までシストが運ばれると考えられた。しかし、60日目における両飼育泥の表層0-1cmのシスト密度は、対照泥の25%余りまで低下したにもかかわらず、1-2cm層の密度は30日目より低くなり、それより下層においても、30日目のシスト密度以上にはならなかった。したがって、イソゴカイ、シズクガイの活動によって表層のシストは下層へ運ばれるが、それ以上に、表層0-2cmのシストが、何等かの要因によって減少したと考えられた。

シズクガイ飼育泥におけるシスト数の減少は、これまでに行った実験においても認められた現象であり、10日間の飼育でも認められたことから、表層堆積物食者であるシズクガイ (Imabayashi and Tsukuda 1984) がシストを摂食することにより、その一部が消化されることが考えられた (Tsujino and Uchida 2004)。したがって、シズクガイの活動がシストに及ぼす影響は、摂食、排泄や移動による鉛直的運搬よりも、摂食・消化による直接的作用の方が大きいと推察された。

イソゴカイ飼育泥における *Alexandrium* 属シスト数の減少は、これまでの実験では確認されておらず、10日間の飼育では有意な差は認められなかった (Tsujino and Uchida 2004)。本研究においても、イソゴカイ飼育泥30日目のシスト数は対照泥のシスト数に対し、有意な差は認められず ( $p < 0.1$ )、60日間の飼育実験において初めて、イソゴカイ飼育泥中のシスト数低下が認められた。シスト発芽実験における、イソゴカイ飼育泥の飼育直上水中の遊泳細胞数は、対照泥よりも有意に少なかったことから、イソゴカイの活動の影響で発芽が促進され、シストが減少したとは考



えにくい。したがって、シスト数低下の原因は、摂食による消化や発芽促進以外の要因の可能性があり、表層堆積物捕食者である(吉田 1972) イソゴカイに摂食され糞中に排泄されたシストが、細菌やウイルス等の微生物の関与によって減少する可能性があるか等、他の要因の検討が必要である(Persson 2000)。

イソゴカイおよびシズクガイ飼育泥直上水中の *Alexandrium* 属の累積遊泳細胞数は、対照泥に対して有意に減少した。このことから、イソゴカイ、シズクガイが底質に生息することによって、シストの発芽が抑制されることが推察された。

発芽実験終了時のイソゴカイ飼育泥中のシスト密度は、対照泥に対して有意な差はなかった。したがって、イソゴカイ飼育泥からの発芽率低下の原因は、泥中シスト数の減少ではなく、イソゴカイの摂食、排泄により糞中に分布するシストの割合が増加し(Tsujino and Uchida 2004)、糞中に包まれた状態のシストは、微弱な照度 ( $0.28 \mu\text{mol photons} / \text{m}^2 / \text{s}$ ) では発芽が抑制される(辻野 投稿中)ためと考えられる。さらに、ベントスによるシストの鉛直分布の変化を調べた実験結果から示唆されるように、イソゴカイの活動によって、発芽可能なシストが下層に運搬されたことがシストの発芽を抑制している可能性がある。

発芽実験終了時のシズクガイ飼育泥中のシスト密度は、対照泥に対して有意に低下した(Table 1)。著者が先に報告したシズクガイによるシスト摂食実験では、シズクガイは594cysts/individual/dayの速度でシストを消化する結果がえられた。この消化速度はシストやシズクガイの密度によって変わると考えられるが、本研究での表層0-1cmのシスト密度が30日間で対照の27%にまで低下したことは、表層堆積物食者であるシズクガイの摂食、消化の結果と考えられ、したがって、表層堆積物食者であるシズクガイによって、表層の発芽可能なシストが摂食され減少したことが飼育泥直上水中の遊泳細胞数低下の一因と考えられる。また、本研究においては計数していないが、シスト発芽の促進や、シスト減少の要因を探る手がかりとなると考えられる泥中の空シストの計数が、今後必要と思われる。

*Alexandrium* 属のような植物プランクトンシストが高密度に分布する沿岸浅海域の泥質には通常多くの多毛類と軟体類の二枚貝が生息する。本研究の結果からイソゴカイやシズクガイの表層堆積物食者は、シスト消化に加えて、糞粒内への包埋や底泥表層に堆積したシストの下層部への運搬によって、シスト数の低減効果や発芽抑制効果を持つことが示された。

## 謝 辞

本研究に際し、有益な助言をいただいた、瀬戸内海区水産研究所業務推進部長内田卓志博士に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- Anderson D. M., 1980 : Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarens* (Dinophyceae) hypnozygotes. *J. Phycol.*, **16**, 166-172.
- Anderson D. M., Taylor, C. D., and Armbrust E. V., 1987 : The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. *Limnol. Oceanogr.*, **32**, 340-351.
- Imabayashi H., and Tsukuda S., 1984 : A population ecology of the small bivalve *Theora lubrica* in northern Bingo-Nada. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **50**, 1855-1862.
- Perez C. C., Roy, S., Levasseur M., and Anderson D. M., 1998 : Control of germination of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J. Phycol.*, **34**, 242-249.
- Persson A., 2000 : Possible predation of cysts - a gap in the knowledge of dinoflagellate ecology ? *J. Plankton Research*, **22**, 803-809.
- Persson A., and Rosenberg R., 2003 : Impact of grazing and bioturbation of marine benthic deposit feeders on dinoflagellate cysts. *Harmful Algae*, **2**, 43-50.
- 辻野 睦, Decamp O., 有馬郷司, 小谷祐一, 神山孝史, 内田卓志, 2001 : 有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium* 属増殖期の広島湾における本属シストの分布とベントス群集および底質環境の変化との関係. 日本水産学会誌, **67**, 850-857.
- Tsujino M., Kamiyama T., Uchida T., Yamaguchi M., and Itakura S., 2002 : Abundance and germination capability of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) from faecal pellets of macrobenthic organisms. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **271**, 1-7.
- Tsujino M., and Uchida T., 2004 : Fate of resting cysts of *Alexandrium* spp. ingested by *Perinereis nuntia* (Polychaeta) and *Theora fragilis* (Mollusca). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*,

- 303, 1-10.
- Yamaguchi M., Itakura S., Imai I., and Ishida Y., 1995a : A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediments. *Phycologia*, **34**, 207-214.
- 山口峰生, 板倉 茂, 今井一郎, 1995b: 広島湾海底泥における有毒渦鞭藻 *Alexandrium catenella* シストの現存量と水平・鉛直分布. 日本水産学会誌, **61**, 700-706.
- Yamamoto M., and Yamasaki M., 1996: Japanese monitoring system on shellfish toxins. In Yasumoto, T., Oshima, Y. and Fukuyo, Y., (eds), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Paris. pp. 19-22.
- 吉田俊一 1972. イソゴカイの養殖に関する研究Ⅱ. 造巣および摂餌行動について. 水産増殖 **20** (1), 19-24.
- 吉田俊一 1984. イソゴカイの飼育生態と養殖に関する研究. 大阪水試研究6, 1-63.