

瀬戸内海播磨灘より見出された *Fibrocapsa japonica*(Raphidophyceae)のシスト

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
著者名	吉松,定昭
発行元	日本プランクトン学会
巻/号	34巻1号
掲載ページ	p. 25-31
発行年月	1987年7月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



瀬戸内海播磨灘より見出された *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) のシスト¹⁾

吉 松 定 昭

(香川県赤潮研究所)

The Cysts of *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) Found in Bottom Sediment in Harima-Nada, Eastern Inland Sea of Japan¹⁾

SADAAKI YOSHIMATSU

Akashiwo Research Institute of Kagawa Prefecture,
Yashima-higashi-machi, Takamatsu 761-01

Abstract

The seasonal variations of number of motile cells of *Fibrocapsa japonica* (Raphidophyceae) appeared from surface sediments of a station located in southern Harima-Nada, Inland Sea of Japan, were traced and the presence of the cysts of this species was confirmed. Sediment samples were collected once a month from April 1985 to April 1986. They were divided into two parts: one was inoculated to an enriched seawater medium and cultured immediately after inoculation, and the other was added to the medium and stored for three months at 12°C. Cultures were maintained under continuous light of 2000lx at 22°C. Vegetative cells appeared in the culture media were counted once a day for about a month. In cultures with low-temperature treated sediments, numerous vegetative cells came out from the samples obtained in July and August. By contrast, in case of cultures with sediments immediately after collection, only a few vegetative cells appeared from July and August samples, and the number of emerged cells began to increase from the January sample. It is reasonable to consider that the storage at low-temperature is important for the germination of cyst. The cyst of *F. japonica* is spherical, 15-20 μm in diameter. It looks brown but lacks a red pigmented body and black spots. Its clear smooth wall does not possess any particular paratabulation or ornamentation. The cysts were frequently observed to be adhered to diatom frustules.

赤潮の発生機構において seed population の役割を果たしている海底泥中のシストが注目され (WALL 1971, STEIDINGER 1975), 渦鞭毛藻類を中心に研究が進められ赤潮を起すプランクトンとシストとの関係が徐々に解明されつつある (ANDERSON & WALL 1978, ANDERSON 1984, ANDERSON & KEAFER 1985).

魚類養殖に大きな被害を起すラフィド藻類の *Chattonella* 属についてはその耐久性細胞が海底泥中で越冬することが報告され (今井ほか 1984), 次いでそのシストが発見された (今井・伊藤 1986). 他のラフィド藻類では *Heterosigma akashiwo* において底生期細胞が報告されている (YAMOCHI 1984). しかしながらラフィド藻類ではシストに関する知見がまだ少なく, シストの生態的意義を解明するためにより多くの情報が待たれている.

著者は1985年7月, 播磨灘西部および南部で赤潮を形成したラフィド藻類の1種 *Fibrocapsa japonica* Tori-

¹⁾ 1987年3月11日受理 (Accepted 11 March 1987)

umi & Takano について海底泥から出現するその栄養細胞数の季節変動を調査すると共にそのシストを発見したのでそれらの結果を報告する。

材料および方法

底泥は1985年4月から1986年4月の間毎月1回香川県引田町の定点 (Fig. 1, 134°28'36''E, 34°16'42''N, 水深37 m) で柱状採泥器 (内径 3.6 cm) を用いて採集した。底泥のコアは断熱材で覆って実験室に持ち帰り、表面から1 cm 深までの層の泥を6本の試験管 (18×180 mm, 通気性シリコン栓付) にそれぞれ2 g (湿重) 入れ、滅菌したESM培養液 (岡市ほか 1982, 塩分約 31‰) 1 ml を加え実験に供した。そのうち3本の試験管は採泥後直ちに培養を開始した。培養は 22°C, 照度 2,000 lx の連続照明下で約30日間継続した。毎日1回上澄み液を取り、新しい滅菌培養液 1 ml を添加し泥の攪拌を充分に行った。取り出した上澄み液は界線スライド上に移し、その中に出現した *F. japonica* を計数し、30日間の累積細胞数を記録した。一方、残りの3本の試験管は約3か月間 12°C, 暗条件下で保存した後、同様に培養実験に供した。

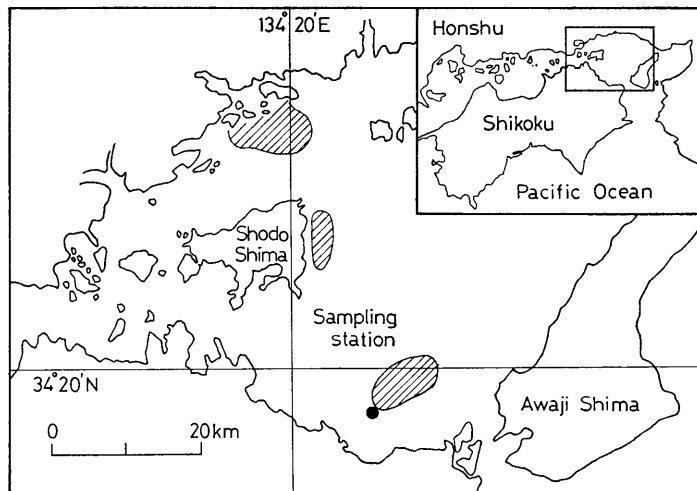


Fig. 1. Sampling station of sediments in Harima-Nada, Inland Sea of Japan. The areas where *Fibrocapsa japonica* red tide occurred in July 1985 are shown by hatched parts (data taken from Setonaikai Fisheries Coordination Office 1985).

本種のシスト探索実施時は今井・伊藤 (1986) による *Chattonella* シストの報告以前であり、ラフィド藻類のシストの形態等についての情報は全くなかったため、既知の渦鞭毛藻類シスト (松岡 1981) を除き、シストの可能性のあると考えられる細胞の全てを1個ずつ分離して発芽を観察する方法をとった。*F. japonica* のシストを発見した後、再度 *F. japonica* のシストと判断される細胞の単離、培養および発芽の観察を行って確認した。

シストの探索には *F. japonica* のシストが著しく多数含まれていることが明らかとなった底泥 (1985年7月24日採泥, 12°C コア中で約4か月保存) を用いた。底泥の表面1 cm の試料をとり発振周波数 28 kHz, 出力約 10W のペンタイプ超音波発振器 (トミー精工, UR-20P) により10秒間超音波処理を行った。その後金属製ふるいを用いてふるい分けを行い 30~125 μm の画分に残った粒子を顕微鏡を用いて調べ、シストと考えられる細胞を1個ずつ, 0.2 ml の培養液を入れた multi-well plate に分離し培養を行った。培養条件は底泥の培養と同様である。発芽の有無は倒立顕微鏡を用いて観察し、発芽細胞およびそれから増殖した栄養細胞を TORIUMI & TAKANO (1973) の記載に従って同定した。

結果および考察

底泥中より出現した栄養細胞累積数の季節変化を Fig. 2 に示す。底泥を 12°C で約 3 か月間保存した後に 22°C で培養した場合、1985年 7月と 8月採集した底泥から著しく多数(湿泥 1g 当り 800~1,270 個)の栄養細胞が出現した。一方、採泥後直ちに培養を行った場合には、1985年 4, 5月と 1986年 1月および 3, 4月に採集した底泥から少数(湿重 1g 当り 6~15 個)が出現したにとどまった。

この結果はシストを直接計数したものでなく、培養を行った時の底泥中の発芽可能なシスト数を表示するものと考えることができる。1985年 7, 8月に採集した底泥においては直ちに培養した場合と低温で保存後培養した場合との間に大きな差が認められた。この差は実験時における発芽可能なシスト数の差と考えられ、7, 8月に採集した底泥中には採集時まだ発芽に至らない状態のシストが多量に含まれていたものと考えられる。一方、6月に採集した底泥においては何れの場合にも出現細胞数はごく少なく、この時期に泥中に存在したシスト数は少なかったものと考えられる。これらのことから底泥中のシスト量は 6月 26日から 7月 24日にかけて著しく増加したことが推測される。

本研究期間中の 1985年 7月中旬に本種が採泥点のごく近くの海域を含む播磨灘 3か所で赤潮を形成したことを瀬戸内海漁業調整事務所(1985)が報告している(Fig. 1)。それらの 1つ小豆島東部海域の赤潮は表層で最大 1,100 細胞 ml^{-1} に達し、海面の着色状態が 3日間継続した。また吉松・小野(1986)は採泥点におけるプランクトン中の *F. japonica* が 1985年 7月上旬から中旬にかけ増加し、最高 65 細胞 ml^{-1} に達したが赤潮には至らなかったと述べている。6月下旬から 7月下旬にかけての底泥中のシスト量の著しい増加は 7月中旬に観測された本種の遊泳細胞に由来するものと考えられる。

9月以降に採集した底泥から出現した細胞数は 12°C, 3か月間保存後培養した場合でも 7, 8月に採集した

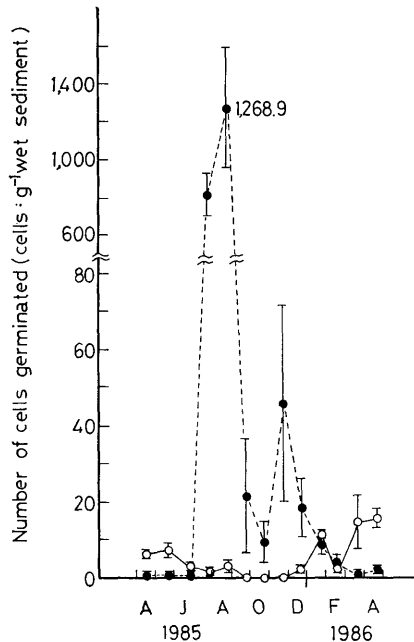


Fig. 2. Seasonal change of motile cells (mean \pm S.D.) of *Fibrocapsa japonica* appeared from bottom sediment (cells g^{-1} wet sediment).

Open circle: sediment cultured immediately after collection, closed circle: sediment cultured after 3 month storage at 12°C.

ものに比べ著しく少なかった。その理由については不明である。

1985年7月と8月に採集した底泥の実験方法による著しい差は先に述べたように実験時の発芽可能なシスト数の差と考えられる、このことから、12°C、3か月間の保存がシストを発芽可能な状態に至らしめたものと推察される。保存期間の3か月間が *Protogonyaulax tamarensis* で報告されている (ANDERSON & MOREL 1979, 福代ら 1982) 発芽に必要な休眠期間と仮定すると、7月中旬の遊泳細胞の増加時に形成されたであろうシストは10月中旬には発芽可能となり、採泥後直ちに培養した場合には10月以降に出現細胞数の増加が期待される、しかしながら底泥を直ちに培養した場合1月から出現細胞数の増加があり、時間的な差が認められる。一方、12°Cの温度にさらされることが発芽に必要であると仮定すると、定点の底層水温が12°C以下になる1月以降(吉松・小野 1986)に出現細胞数の増加が起ったことと矛盾しない。これらのことから本種のシストの発芽には低温にさらされること(低温刺激)の必要性が考えられる。

本種のシスト探索のため、ふるいで分離した粒子70個を multi-well plate の各区画に1個ずつ収容し、倒立顕微鏡で観察した。その結果、培養開始後2日目に4区画において *F. japonica* と考えられる細胞が出現した。細胞は楕円形で長さ約20 μm 、幅約16 μm でわずかに扁平であり、細胞前部の咽喉部から発する2本の鞭毛を持ち、色素体は褐色で細胞全体に分布し、細胞の後部に刺胞桿が多数集合している。これらの特徴から本種を TORIUMI & TAKANO (1973) の記載した *F. japonica* と同定した。シストから発芽した遊泳細胞と、その後分裂により増殖した遊泳細胞との間には形態および大きさに明らかな差は観察されなかった。

発芽した4個のシストの形態に基づき再度本種のシストと考えられる粒子を底泥より分離し、培養を行った結果、合計20個のシストから発芽を確認した。

この観察で確認された本種のシストは球形で直径15~20 μm 、茶褐色を呈しており、red body は見られない(Pl. I, 2, 4, 6)。発芽直前のシストには *F. japonica* 特有の細胞後部の刺胞桿の集合が観察された。透明なシスト壁には偽鎧板構造や壁表面の突起あるいは装飾物はない。*Protogonyaulax* 属のシストに見られるような細胞壁の外側の厚い粘液質の層は認められない。しかし本種のシストは珪藻類の殻などに付着していることが多く、単独で存在している場合にも周辺に微細な粒子が付着しているので殻表面に何らかの粘液質が存在しているものと推定される。今井・伊藤(1986)は *Chattonella* のシストは側面からみると付着面が扁平で、概ね半円形をしており、この点が *Chattonella* のシストの顕著な形態的特徴であると述べている。本種のシストも付着面は扁平と考えられるが、基本型は球形と推定される。また今井・伊藤(1986)が述べている濃褐色あるいは黒色の斑点は本種のシストでは観察されない。

本種のシストは小さく、特徴のある外壁を持たず、また超音波処理によっても珪藻類の殻などからシストを完全に分離できない。従って底泥中のシストを大きさを基準としてふるい分けることはできないので直接シストを計数することは困難である。しかし低温保存条件などの実験手法を規格化することにより底泥を培養し、出現する細胞数からシストの分布量を推定することは可能と思われる。本研究では湿重1g中から最高1,270個の細胞が出現した例があり、場所によっては底泥中のシストの数はかなり多いものと思われる。

現在、ラフィド藻類のシストの発芽のための低温刺激の必要性を証明する実験等を実施中であり、今後プランクトン中の遊泳細胞とシストの関連を明らかにしていきたい。

謝 辞

本研究を進めるにあたり、懇切な御助言と御校閲を賜った香川大学農学部教授岡市友利博士、ならびに御指導を頂いた香川県赤潮研究所小野知足主席研究員に心から謝意を表す。

引用文献

- ANDERSON, D.M., 1984. Shellfish toxicity and dormant cysts in toxic dinoflagellate blooms, pp. 125-138. In *Seafood Toxins* (ed. RAGELIS, E.P.). American Chemical Society, Washington, D.C.
- ANDERSON, D.M. & B.A. KEAFER, 1985. Dinoflagellate cyst dynamics in coastal and estuarine waters, pp. 219-224. In *Toxic Dinoflagellates* (eds. ANDERSON, D.M., A.W. WHITE & D.G. BADEN). Elsevier, North-Holland.
- ANDERSON, D.M. & F.M.M. MOREL, 1979. The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* hypnocysts. *Estuar. coast. mar. Sci.*, **8**: 279-293.
- ANDERSON, D.M. & D. WALL, 1978. Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *J. Phycol.*, **14**: 224-234.
- 今井一郎・伊藤克彦, 1986. 周防灘海底泥から見い出された *Chattonella* のシストについて (予報). 日本プランクトン学会報, **33**: 61-63.
- 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**: 35-42.
- 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. 国立公害研究所研報, **30**: 43-52.
- 松岡数充, 1981. “シストの分類.” 赤潮マニュアル II. 渦鞭毛藻類 (安達六郎・入江春彦編): pp. 84-121. 赤潮研究会分類班,
- 岡市友利・西尾幸郎・今富幸也, 1982. “有毒プランクトン研究法.” 水産学シリーズ 42, 有毒プランクトン (日本水産学会編): pp. 22-34. 恒星社厚生閣, 東京.
- 瀬戸内海漁業調整事務所, 1985. 昭和60年7月瀬戸内海における赤潮発生状況. 瀬戸内海漁業調整事務所, 8 pp.
- STEIDINGER, K.A., 1975. Basic factors influencing red tides, pp. 153-162. In *Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellate Blooms* (ed. V.R. LOCICERO). Mass. Sci. Tech. Found., Wakefield, Massachusetts.
- TORIUMI, S. & H. TAKANO, 1973. *Fibrocapsa*, a new genus in Chloromonadophyceae from Atsumi Bay, Japan. *Bull. Tokai reg. Fish. Res. Lab.*, No. 76: 25-35.
- WALL, D., 1971. Biological problems concerning fossilizable dinoflagellates. *Geoscience and Man*, **3**: 1-15.
- YAMOCHI, S., 1984. Mechanisms for outbreak of *Heterosigma akashiwo* red tide in Osaka Bay, Japan. *J. oceanogr. Soc. Japan*, **40**: 343-348.
- 吉松定昭・小野知足, 1986. 播磨灘南部での赤潮生物 および 鞭毛藻類の季節的消長. 香川県赤潮研究所研報, **2**: 1-42.

Explanation of Plate I

Fibrocapsa japonica.

1. Vegetative cell.
 2. Cyst.
 3. Newly germinated cell and empty cyst.
 4. Cyst adhering to a diatom frustule.
 5. Empty cyst after germination of the cyst shown in Pl. I, 4.
 6. Cyst adhering to a diatom frustule.
 7. Empty cyst after germination of the cyst shown in Pl. I, 6.
- Scale bar = 10 μ m

PLATE I

