

有明海、八代海、佐伯湾における休眠期細胞を形成する珪藻類に関する研究 (仮題)
(卒業論文中間報告)

浮遊性珪藻類は海洋の生態系において一次生産者として大きな役割を果たしている。また、有害プランクトンの発生状況にも大きく影響することが指摘されている。そこで、沿岸・内湾域における浮遊性珪藻類の出現動態を解明することにより、日本沿岸で発生する貝毒や赤潮の原因となるプランクトンの発生機構を解明することが可能と考えられる。珪藻休眠期細胞は、好適環境に遭遇すると発芽・復活して栄養細胞となり、ブルームのシードポピュレーションとして機能することが報告されているため、休眠期細胞の分布を知ることは浮遊性珪藻類の出現動態の履歴の把握につながる。本研究では、有明海、八代海及び大分県佐伯湾の三海域を対象とし、海底堆積物中に存在する珪藻休眠期細胞の密度を推定することによって各海域の珪藻類の出現動態の履歴を把握することを目的とする。また今までに、どのような海域に、どのような休眠期細胞が海底泥中に生息するのか、休眠期細胞を直接観察した知見は少ない。そこで、珪藻休眠期細胞を倒立顕微鏡で直接検鏡・撮影し、発芽した栄養細胞の同定を通じてリスト化することにより、海底堆積物中の珪藻休眠期細胞の分布に関する研究情報の充実を図る。

2014年4月19-22日に有明海と八代海の46地点において、また2014年6月11日に大分県佐伯湾の7地点において採泥を行い、MPN法を用いて各海域における珪藻休眠期細胞の分類群ごとの分布密度を推定した。冷暗所に保存した海底泥試料を十分に攪拌した後、滅菌濾過海水で濃度 0.1 g ml^{-1} に懸濁し、これを 10^0 とした。さらに、改変SWM3-培地を用いて順次10倍希釈して 10^1 から 10^6 までの段階希釈したものを調整した。各希釈段階について、組織培養用のマイクロプレート(48ウェル)を用い、各希釈段階のものについて5区画に1mLずつそれぞれ接種した。培養は、温度 20°C 、光強度 $50\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{ s}^{-1}$ 、明暗周期14hL:10hDの条件下で行い、培養開始後7日目に倒立顕微鏡を用いて観察を行った。珪藻の栄養細胞の出現・増殖が確認された区画を陽性とし、各希釈段階の陽性数の組み合わせから、海底泥中の珪藻休眠期細胞の存在密度を求めた。

次に、海底堆積物中の珪藻休眠期細胞の濃縮は、まず目合い $150\ \mu\text{m}$ と $20\ \mu\text{m}$ の2種類の篩を用い、篩分けを行った。その後、遠沈管に密度勾配遠心分離媒体Nycodenzを溶解して比重1.372の溶液を調整し、篩分けをした試料をその上に乗せて、 $1000\ \text{rpm}$ ($1600\times\text{g}$)で10分間遠心分離を行った。上澄みの生物区画を $20\ \mu\text{m}$ メッシュの篩に回収し、滅菌濾過海水でNycodenzを洗い流し、海水に得られた珪藻休眠期細胞を懸濁し、倒立顕微鏡下で休眠期細胞を直接検鏡した。休眠期細胞をキャピラリーを用いて単離し、写真撮影した後、改変SWM3-培地で7日間培養させ(培養条件は上述の通り)、発芽・復活した栄養細胞を再び撮影した。

MPN法による計数の結果、佐伯湾の各定点における底泥中の珪藻類休眠期細胞密度は 4.5×10^4 - $2.4\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ 、有明海では 1.1×10^4 - $1.3\times 10^6\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ の範囲であることがわかった。特に顕著に観察された珪藻類は、佐伯湾、有明海共に*Chaetoceros*属、*Skeletonema*属、*Thalassiosira*属、及び*Navicula*属であった。佐伯湾7地点のうち、最も多くの種が観察された片白島付近の海底泥を用いた珪藻休眠期細胞の直接検鏡の結果によると、*Actinoptychus senarius*と*Navicula*属の休眠期細胞が確認された。今後の予定としては、八代海におけるMPN法を用いた珪藻休眠期細胞の密度の推定を引き続き行い、分布を把握する。そして、篩分けの手法を改善しながら休眠期細胞の直接検鏡と撮影を行っていき、生息する種のリストを充実させていく予定である。

瀬戸 友理