

Persson, A., B. C. Smith, S. Morton, A. Shuler, G. H. Wikfors (2013)
Sexual life stages and temperature dependent morphological changes allow cryptic occurrence of the Florida red tide dinoflagellate *Karenia brevis*
Harmful Algae 30: 1–9.

有性生殖期と温度依存型の形態学的変化は
フロリダにおける赤潮原因渦鞭毛藻類*Karenia brevis*の潜在的な発生を可能にする

Karenia brevis はメキシコ湾で深刻な有害有毒ブルームを引き起こすことで有名な有毒渦鞭毛藻であり、多くの研究がなされてきたが、生活環の中で有性生殖の研究は殆ど見られなかった。我々は *K. brevis* の生活環がおそらくはシスト形成でなく形態学的に異なる各ステージを有し、同型配偶の異株接合であることを発見した。しかし過去には、フロリダ西部沿岸の調査で「休眠シストの可能性のあるもの」の存在が報告された。他種の有性生殖に関する詳細な研究により、有性生殖の異なる段階の間に違いのある可能性があるため、我々は新たな実験法を用いて *K. brevis* の有性生活史、特に休眠シストの存在に関して研究を行った。

本研究では培養実験と発芽実験を行った。培養実験は、微生物保存株から選んだ 4 つの *K. brevis* のクローン培養 (NOAA-1, C2, JAX C5, C5) を用いた。培養のために L1 培地を基本とし、「シスト形成培地」として窒素無添加の L1 培地を用いた。*K. brevis* の培養を、無菌的に 50 mL ずつ分注し、各条件 (表 2) で培養した。培養は毎日倒立顕微鏡で観察し撮影した。また 10 日目には、より高い倍率で撮影した。上記の実験により、低温での培養は細胞の形態の変化、および薄膜シストの形成を引き起こすことわかった。そのため、温度により誘発された形態的な変化を経時的に追跡するために次の実験を行った。5 つの異なる株 (上記の 4 つに SP3 を追加) を用意し、24 ウェルマイクロプレートに分注した。発芽実験で用いた海底堆積物は、サニベル島付近で、春 (2012 年 3 月 1 日) の *K. brevis* のブルームの直後に合計 5 L を 1 L 容のビン 6 本にとり、初秋 (2012 年 10 月 8, 23 日) の *K. brevis* のブルーム時には合計 6.7 L の堆積物を 8 つのビンに採取した。堆積物は表層 10 cm を試料として得た。水深 30 cm までの潮間帯域で PVC 堆積物柱状採泥器を用いて採集した。渦鞭毛藻シストを含む粒子径画分はシスト選別機により濃縮した。30–50 cm の範囲にシストが多いのでこのサイズ画分を広口ピペットにより 10 mL 採取した。検鏡用の堆積物試料は 5 分超音波処理し、20–100 μm のふるいにかけてサイズ分画した。検鏡後、永久検鏡スライドを作成した。堆積物試料のシスト発芽実験は、L1 の栄養を加え、0.2 μm で吸引ろ過したフロリダ海水と、細菌を除くためのろ過をした栄養塩未添加のフロリダ海水を用いて行った。堆積物は未処理、および超音波処理とふるい分け処理を施したものの 2 通りであり、50 mL 容の組織培養フラスコを用い、2 種類の海水で、2 回のサンプリング試料について実験を行った。培養条件は、22°C のインキュベータ (光条件は 190 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 14:10 L:D) と室温 23°C の室内 (光条件は 240 $\mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 24h L) とした。各々のフラスコは、5 日間倒立顕微鏡で毎日観察した。

培養実験において、温度依存性の細胞形態変化と薄膜シストの形成が見られた。また以前報告された「休眠シストの可能性のあるもの」は本実験内でも認められたが、その特徴は他のシストを形成する渦鞭毛藻類の休眠シストの特徴とは異なり、鞭毛は欠如しているが、この実験における後期接合子の特徴に類似していた。これらのことから「休眠シストの可能性のあるもの」は後期接合子の薄膜シストであることが示唆された。さらに、堆積物中から *K. brevis* の休眠シストは発見されず、同様に発芽実験でも発芽した *K. brevis* の細胞は見い出されなかった。以上のことから、調査域において休眠シストが *K. brevis* の重要な生残戦略ではないということが示唆された。

田村航士