

沿岸域における海底堆積物中の珪藻類休眠期細胞に関する研究

(卒業論文発表練習)

珪藻類は海洋生態系において、一次生産者として極めて大きな役割を果たしている。珪藻類には、増殖に不適な環境下において休眠期細胞を形成し、海底堆積物中で生存する種が存在する。これらの休眠期細胞は、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おり、休眠期細胞の分布を知ることは珪藻類の出現動態の把握に基本的に重要である。また、海底堆積物中の底生性羽状目珪藻類の休眠期細胞に関する知見は大変少ない。そこで本研究では、周防灘（大分県）、佐伯湾（大分県）、田尻港（広島県福山市）、及び英虞湾（三重県）の4海域を対象とし、海底堆積物中に存在する珪藻類休眠期細胞の密度の測定を、採泥から5日以内、3か月後、6か月後に行うことにより、各海域における珪藻類の出現動態の履歴、及び海底堆積物中の羽状目珪藻類の暗黒条件における経時的な密度変化を把握した。それにより、これまで不明であった羽状目珪藻類の休眠期細胞の生理生態を解明する基礎情報を得ることを目的とした。

2016年6月3日に周防灘の5地点及び大分県佐伯湾の11地点、また2016年5-8月にかけて月2回の間隔で広島県福山市の田尻港内の1地点、さらに2016年7-10月にかけて月1回の間隔で三重県英虞湾の1地点において採泥を行った。これらの海底堆積物試料は冷暗所に保存し、直接検鏡法により休眠期細胞の観察と計数、及びMPN法により発芽・復活可能な休眠期細胞密度の分類群ごとの推定を行った。

まず、直接検鏡法は採泥後5日以内に行った。海底堆積物試料を滅菌濾過海水で濃度 0.1 g mL^{-1} の懸濁液に調整し、これを 10^0 とした。さらに滅菌濾過海水を用いて順次10倍希釈して 10^{-1} 及び 10^{-2} に希釈したものを調製した。これらの希釈懸濁液を温度 20°C 、光強度 $50 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ の条件下で12時間静置した。その後、青色励起光を当てて珪藻類の細胞中の葉緑体から発する赤色の自家蛍光をもとに観察・計数を行った。ただし、計数は細胞数が100 cells以上になるように 10^{-1} または 10^{-2} の希釈液を適宜用いた。

次に、堆積物試料を採取後5日以内にMPN法を用いて各海域における珪藻類休眠期細胞の分類群ごとの存在密度を推定した。堆積物試料を滅菌濾過海水で濃度 0.1 g mL^{-1} に懸濁し、これを 10^0 希釈懸濁液とした。次に、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懸濁液を調製し、マイクロプレート（48ウェル）に各段階の希釈懸濁液を5区画に1 mL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14 h L: 10 h Dの条件下で行い、培養開始後約1週間後に倒立顕微鏡を用いて観察を行った。珪藻類栄養細胞の出現・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最確数表を参照し、海底泥中の珪藻類休眠期細胞の存在密度を求めた。さらに、羽状目珪藻類の存在密度が高かった佐伯湾の3地点、周防灘の2地点の堆積物試料については、採泥してから約3か月後、6か月後にMPN法を用いて同様に存在密度を推定した。

直接検鏡法による観察・計数の結果、底泥中の珪藻類休眠期細胞密度は、周防灘の各地点におい

て 1.0×10^4 - 9.9×10^4 cells g^{-1} wet sediments, 佐伯湾では 3.6×10^4 - 2.4×10^5 cells g^{-1} wet sediments の範囲であることが判明した。また, 田尻港及び英虞湾の定点では期間中それぞれ, 3.3×10^4 - 4.2×10^5 , 6.5×10^3 - 2.4×10^5 cells g^{-1} wet sediments の範囲で推移した。

MPN 法による計数の結果, 底泥中の珪藻類休眠期細胞密度は, 周防灘の各定点において 8.0×10^2 - 2.1×10^5 MPN g^{-1} wet sediments, 佐伯湾では 1.1×10^4 - 1.9×10^5 MPN g^{-1} wet sediments の範囲であることが判明した。また, 田尻港及び英虞湾の定点では期間中それぞれ, 3.9×10^3 - 2.2×10^5 , 1.8×10^4 - 2.5×10^5 MPN g^{-1} wet sediments の範囲で推移した。共通して顕著に観察された珪藻類は *Skeletonema* 属, *Chaetoceros* 属, 及び *Nitzschia* 属であった。

海域ごとにみると, 周防灘及び佐伯湾では, 水深の浅い地点では中心目珪藻に対し羽状目珪藻の割合が高く, 特に周防灘では, *Thalassionema* 属が他の海域に比べ顕著に出現した。田尻港では, MPN 法において, 5月から7月にかけて中心目の割合が高くなり, 8月に低くなった後11月には再び高くなった。英虞湾では, MPN 法による結果, 7月から9月を通して羽状目珪藻の割合が高かったが, 10月には低くなった。さらに田尻港及び英虞湾において, MPN 法の結果に対して直接検鏡法における羽状目珪藻の割合が低くなる傾向があった。

また, 3カ月後と6か月後に実施したMPN法による結果, 全休眠期細胞数は減少した。分類群ごとにみると *Chaetoceros* 属及び *Navicula* 属の割合は増加する一方, *Nitzschia* 属及び *Thalassionema* 属に関しては減少した。

本研究の結果から, 4海域全体において珪藻類休眠期細胞が高密度で存在していることが判った。休眠期細胞密度は, 潮流や河川水の流入, 水深などの水理環境や, 溶存酸素量や温度, 塩分などの化学的環境要因により分布状態に差が認められた。休眠期細胞の水平分布をみた周防灘及び佐伯湾では, 流入河川の影響が及ぶ水域で休眠期細胞密度が高い傾向があり, これは河川水の流入により栄養塩が豊富になっており, 植物プランクトンが豊富に生息しているためと考えられる。また, 水深の浅い地点で羽状目珪藻の割合が高かったが, 深い地点に比べ光が底層まで届くため, 底生性の羽状目珪藻の増殖に有利となると同時に, 中心目珪藻の休眠期細胞が形成・蓄積しにくいためと考えられる。休眠期細胞数の経時的遷移をみた田尻港及び英虞湾では, 貧酸素水塊が形成され底層水の溶存酸素量が減少した時期に羽状目珪藻の割合が減り, 海水の攪乱により鉛直混合が起きると中心目珪藻の休眠期細胞が発芽し減少していると考えられる。また, *Chaetoceros* 属及び *Navicula* 属の休眠期細胞の生存期間は比較的長いことが示され, これまで報告が少なかった羽状目珪藻類の休眠期細胞の存在が示唆された。

以上より, 浅海域の海底堆積物中において羽状目珪藻類が高密度に存在していること, さらには長期暗黒条件下における羽状目珪藻類の生存が示され, 羽状目珪藻類の休眠期細胞についての基礎情報を得ることが出来た。今後は現場海域における珪藻類の出現動態を把握するためにも, 羽状目珪藻類の生理生態についてさらに深く調査, 研究を行うことが重要である。