

## 有明海、八代海、及び佐伯湾における海底堆積物中の珪藻休眠期細胞に関する研究

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、有害有毒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。珪藻類休眠期細胞は、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・復活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に試みた。

2014年4月19-22日に有明海22地点と八代海の24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 $0.1\text{ g ml}^{-1}$ に懸濁し、これを $10^0$ とした。さらに、改変SWM-3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整し、組織培養用のマイクロプレート(48ウェル)に各希釈段階の懸濁液を5区画に1mLずつそれぞれ接種した。培養は、温度 $20^\circ\text{C}$ 、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、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、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。休眠期細胞はキャピラリーを用いて改変SWM-3培地の入ったマイクロプレートのウェルに単離し、写真撮影した後、改変SWM-3培地で7日間培養し(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、3海域の各定点における底泥中の珪藻類休眠期細胞密度は有明海で $1.0\times 10^4$ - $1.3\times 10^6\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ (平均: $4.9\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ )、八代海で $8.7\times 10^3$ - $3.6\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ (平均: $1.1\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ )、佐伯湾で $4.5\times 10^4$ - $2.4\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ (平均: $1.1\times 10^5\ \text{cells g}^{-1}\ \text{wet sediments}$ )の値であった。また、分類群組成をみると、有明海では中心目が15属で羽状目が11属、八代海では中心目が21属で羽状目が10属、及び佐伯湾では中心目が10属で羽状目が5属認められた。有明海と八代海では全地点において*Chaetoceros*属、*Skeletonema*属、*Thalassiosira*属が優占していた。佐伯湾では、比較的水深の浅い地点(15m以浅)では*Navicula*属が優占していた。珪藻休眠期細胞の発芽試験と形態観察においては、有明海で19種(中心目17種、羽状目2種)、八代海で3種(中心目3種)の珪藻類を発芽・回復させ、観察した。

本研究の結果から3海域全体において珪藻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、潮流や河川流入などの物理的的海洋環境や、水深などの地理的環境によって分布状

態に差が出ていた。有明海と八代海では流入河川の影響が及ぶ水域で休眠期細胞密度が高かった。河川の流入水により栄養塩が豊富になっているためと考えられる。特に有明海では、浮泥濃度が高い地点で休眠期細胞密度が高かったことから、河川を通して運ばれてきた栄養塩によって珪藻類が増殖し、その後浮泥の濁度で光が遮られるため休眠期細胞を形成し、堆積している可能性がある。佐伯湾で水深の大きいところで休眠期細胞密度が比較的高かったのは、浅い地点に比べて光が底層まで届かず、休眠期細胞が発芽・回復せずに堆積されたままになっている可能性が高い。各海域における珪藻休眠期細胞の優占分類群により、海域の富栄養度を考えてみると、有明海と八代海の *Actinocyclus* 属が豊富に存在しているほぼ全ての地点において過栄養水域指標である *Skeletonema* 属が優占して存在していた。よって *Actinocyclus* 属も過栄養水域の生物指標となる可能性がある。また、佐伯湾では水深が比較的浅い地点で *Navicula* 属が優占して存在した。これは、水深が浅いため底生性の *Navicula* 属にも光が十分に当たり、増殖が可能であったためと考えられる。そして光のない環境下で休眠期細胞に変化した可能性がある。

珪藻類休眠期細胞の発芽試験と形態観察において、これまでに報告がない休眠期細胞は *Nitzschia longissima* の1種であった。休眠細胞は、その外部形態が栄養細胞と非常によく似た特徴を持つが、細胞内に色調が暗化した凝集体をもつことが知られている。今回培養前に観察した *Nitzschia longissima* でも確認することが出来た。また今回使用した海底泥試料は、発芽実験を通じた形態観察を行うまで、半年以上冷暗所で保存していたことを考慮すると、栄養細胞のまま生存していたとは考えにくい。したがって、今回確認された、*Nitzschia longissima* は、休眠細胞であると考えられる。

瀬戸友理