

## 英虞湾の底泥における中心目珪藻類休眠期細胞群集の シード・ポピュレーションとしての機能性評価

上野亮子・石川 輝\*

三重大学大学院生物資源学研究科 〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577

### Evaluation of functionality as a seed population of resting stage cells of centric diatoms in surface sediments of Ago Bay, central part of Japan

RYOKO UENO AND AKIRA ISHIKAWA

Graduate School of Bioresources, Mie University, 1577 Kurima-machiya, Tsu, Mie 514-8507, Japan

\*Corresponding author: E-mail: [ishikawa@bio.mie-u.ac.jp](mailto:ishikawa@bio.mie-u.ac.jp)

**Abstract** The abundance and species composition of viable resting stage cells and vegetative cells of centric diatoms were investigated in Ago Bay in May and July, 2006, and in March 2007 to evaluate the functionality of the resting stage cells as a seed population. Viable resting stage cells in the surface sediments were enumerated by the extinction dilution method (most probable number method). High densities of resting stage cells ( $6.1 \times 10^3 - 2.4 \times 10^5$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$ ) were detected throughout the study period. In the assemblage of resting stage cells, 8 genera 25 species in total were identified. Among the 25 species, 24 species (i.e. 96% of the total) were observed in the assemblage of vegetative cells, suggesting that the resting stage cells in the surface sediments function well as a seed population for the vegetative cells. However, the abundance and composition of the dominant groups in the sediments did not always correspond to those in the water column. This does not however point to a lack of importance of resting stage cells as seeds, since bloom dynamics after recruitment of newly germinated/rejuvenated cells into the water column are largely dependent on vegetative growth, which is controlled by many environmental factors. Furthermore, this study suggested that species diversity in the vegetative assemblage of centric diatoms in Ago Bay is substantially supported by the seed population in the surface sediments.

**Key words:** centric diatom, resting stage cell, seed population, sediment, Ago Bay

#### はじめに

珪藻類は海洋生態系における主要な一次生産者であり、特に沿岸域や内湾域のような栄養塩の流入・負荷量が多い水域では一次生産者としての役割は顕著に大きい。珪藻類は中心目と羽状目に分けられるが、前者のうちには生活史の一時期に「休眠孢子」を形成する種が多く

知られている (Hargraves & French 1983, McQuoid & Hobson 1996)。休眠孢子は栄養細胞とは異なる外部形態をしており、環境悪化に対して高い抵抗力を有している。一方、外部形態は栄養細胞と同じでありながら生理的に環境の悪化に耐えられる細胞も知られている。これは休眠孢子と区別して「休眠細胞」と呼ばれている (Hargraves & French 1983, McQuoid & Hobson 1996)。本稿ではこれら休眠孢子と休眠細胞をまとめて

「休眠期細胞」と呼ぶ。休眠期細胞は水柱中で形成された後、海底へ沈降し、環境が良くなると発芽・復活して栄養細胞増殖の種としての役割を果たす (Hargraves & French 1983, McQuoid & Hobson 1996, Itakura et al. 1997). したがって、底泥中の休眠期細胞群集は種群集、すなわちシード・ポピュレーションとして認識される。

底泥中の珪藻類休眠期細胞に関する研究は主に瀬戸内海を中心に行われ、同海域における存在密度や種および属レベルでの組成が明らかにされてきた (今井ほか 1990, Itakura et al. 1997). 板倉 (2000) は、瀬戸内海での調査結果を例に水域の珪藻類の種組成が底泥中の休眠期細胞の組成に大きく影響を与える可能性があるとしている。つまり、水柱中で優占する種は多くの休眠期細胞を形成するので、底泥中にも当然その種が多くなるということである。しかし一方では、底泥中の休眠期細胞の組成が水柱中の栄養細胞群集の種組成に影響を及ぼすことも考えられる (板倉 2000). このような場合には底泥中の休眠期細胞群集が、まさにシード・ポピュレーションとして機能していると言えるであろう。珪藻類の個体群動態における休眠期細胞の生態的役割を考える上でも、このような点に関する知見を様々な海域において集積していく必要がある。

三重県の南部に位置する英虞湾は、複雑に入り組んだ多くの支湾を持つ平均水深 9 m の内湾であり (大中 1998)、湾口部は比較的狭いながらも熊野灘に面して開いている半閉鎖的な湾である。このような地形的特徴のため、湾内は閉鎖的な性格を示しながらも、特に湾口部付近では湾外からの水の影響を受けやすく、したがって、栄養細胞の出現密度や種および属レベルでの組成 (以下、本稿

ではこれを「分類群組成」と呼ぶ) も複雑な様相を呈するものと考えられる。同湾では、1994年に一度、珪藻類休眠期細胞に関する調査が行われており、底泥中における休眠期細胞の存在密度や分類群組成が明らかにされた (板倉 2001). しかし、同湾ではこれまで珪藻類栄養細胞群集全体を扱いその出現密度と分類群組成を詳細に調べた研究例がほとんどないため、栄養細胞群集と休眠期細胞群集との対応関係について評価するに至っていない。そこで本研究では、英虞湾の底泥中における中心目珪藻類の休眠期細胞の存在密度と分類群組成を改めて調査すると同時に、栄養細胞の出現密度ならびに分類群組成についても詳しく調べ、得られた結果をもとに休眠期細胞群集のシード・ポピュレーションとしての機能性を評価した。

## 方 法

### 海洋観測

三重県英虞湾全域に Sts. 1-6 の 6 測点を設け (Fig. 1), 2006年5月19-20日と、同年7月14-15日、2007年3月12-13日の計3回、調査を行った。

採水はバンドーン採水器を用いて行い、Sts. 1-5では水深 0 m, 5 m, b-1 m (海底から 1 m 上) の 3 層より、また、St.6では水深 0 m, 4 m, b-1 m の 3 層より試水を得た。本稿ではこれら 3 層のことを、上から表層、中層、下層と呼ぶ。採水と並行して多項目水質計 (クオンタ, Hach-Hydrolab) により水柱中の水温と塩分を測定した。なお、現場観測では透明度の計測を行い、海表面の光強度に対する海底上の光強度の相対的な割合を算出し

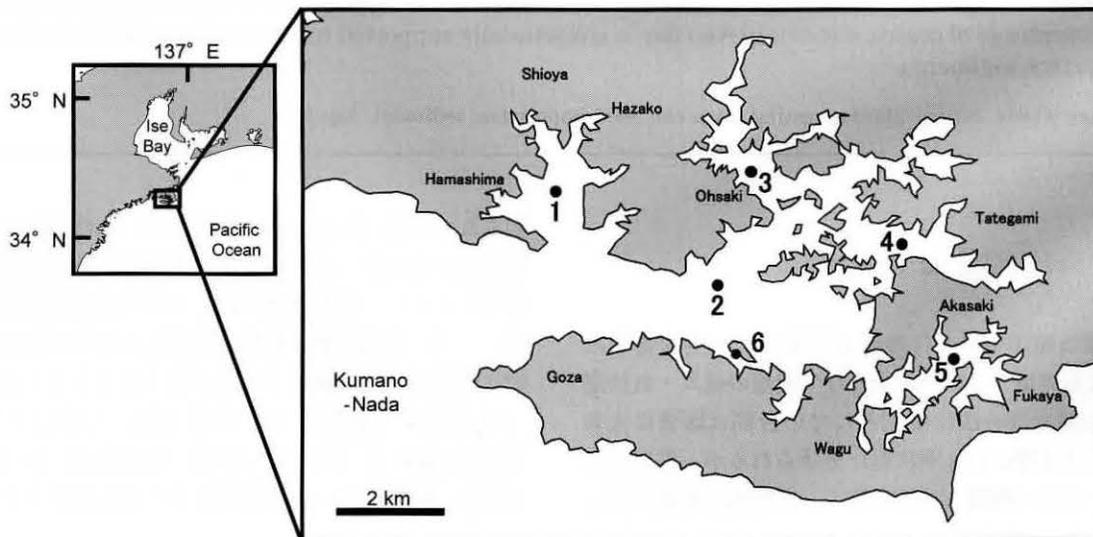


Fig. 1. Location of the sampling stations in Ago Bay.

た。海中のある深さ ( $d$  m とする) における光強度 ( $I_d$ ) は次のように表される。

$$I_d = I_0 e^{-kd}$$

ここで、 $I_0$  は海表面の光強度、 $k$  は光減衰係数である。したがって、 $d$  を各測点の水深 (m)、 $I_0$  を 100 とし、この場合海底上に到達した相対光強度 (%) となる  $I_d$  を算出した。 $k$  は経験式である  $k = 1.7 \cdot [\text{透明度 (m)}]^{-1}$  (Sverdrup et al. 1942) から求めた。

採泥はエクマンバージ採泥器を用いた Yokoyama & Ueda (1997) の方法に従った。本研究では採泥器のバケツ内にセットするプラスチックコアとして直径 2 cm のものを使用した。各測点で 3 本ずつ泥コアサンプルを採取し、得られた泥の上部 1 cm を切り取り 1 個の不透明なプラスチック容器にまとめて収容した。これを泥サンプルとして、休眠期細胞数を見積もるための培養実験に供した。採泥直後には、0–1 cm 深の泥温度を測定し、培養実験開始まで泥サンプルをそれら泥温 (各測点の泥温: 5 月 17.0–17.8°C, 7 月 20.0–21.5°C, 3 月 13.9–15.6°C) と同程度の温度 (5 月 17°C, 7 月 20°C, 3 月 15°C)、かつ暗所で保存した。

### 休眠期細胞数の見積もり

採泥後 3–7 日の間に、終点希釈法 (Imai et al. 1984) に従って培養実験を行い、泥中の休眠期細胞数の見積もりを行った。手順について簡単に述べる。まず、泥試料中の休眠期細胞の分布を均一にするため泥試料をよく攪拌し、2 g (湿重量) を分取した。それを 20 mL の f/2 培地 (Guillard & Ryther 1962) に懸濁し 0.1 g mL<sup>-1</sup> の泥希釈懸濁液を調製した。これを 10<sup>0</sup> 懸濁液とし、この懸濁液を f/2 培地により順次 10 倍ずつ希釈して、10<sup>-2</sup>–10<sup>-4</sup> の泥希釈懸濁液を得た。これら各希釈段階の懸濁液から 1 mL ずつ細胞培養用マルチウェルプレート (24 穴, Becton Dickinson) の 5 穴にそれぞれ接種し、採泥時の現場泥温と同程度の温度 (5 月 17°C, 7 月 20°C, 3 月 15°C) で培養を行った。光強度は 5 月の培養では 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、7 月と 3 月のそれでは 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  とし、12 hL : 12 hD の明暗周期の条件下で 7–10 日間の培養を行った。培養後、全ての穴の培養液 (懸濁液) に中性ホルマリンを最終濃度 1 % (v/v) となるように加えた後、各穴の懸濁液中における栄養細胞の出現の有無を倒立顕微鏡 (Nikon ECLIPSE TE300) を用いて調べた。観察の対象は中心目珪藻類とし、出現したものを陽性として記録した。各希釈段階での陽性数の組み合わせから、最確数表 (Thronsdon 1978) を参照し、もとの底泥 1 g 中の最確数を算出した。このようにして得られた 1 g

中の休眠期細胞数に、各測点の底泥の比重 ( $\text{g cm}^{-3}$ ) を乗じて、最終的に湿泥 1 cm<sup>3</sup> 当たりの数 (resting stage cells cm<sup>-3</sup> wet sediment; 以下 resting stage cells cm<sup>-3</sup> と表記する) に換算した。底泥の比重は、Kamiyama (1996) の方法に従って求めた。なお、終点希釈法は培養に基づいて休眠期細胞数を見積もるため、ここで得られる数は底泥中に存在する総数ではなく、発芽・復活可能な休眠期細胞数として解釈される (今井 1990)。

ところで、調査開始当初の 2006 年 5 月に得られた泥試料の培養には 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  という同年 7 月および 2007 年 3 月のそれに比べて高い光強度を用いた。これは、発芽・復活した栄養細胞の増殖に、より十分な光を照射するためであった。しかし、この 5 月には問題は無かったが、高い光強度で培養すると、その光強度で増殖しやすい種が爆発的に増殖し、そうでない種がそれらの細胞の影に隠れてしまい、結果として泥より出現する全種の細胞観察が困難となることも考えられた。そこで、その後の 7 月および 3 月には 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  という光強度に切り替えた。この光強度は他の研究における泥試料の培養実験にも用いられている (今井ほか 1990, 板倉 & 今井 1994, 板倉 2000)。

### 栄養細胞の検鏡

得られた試水に、中性ホルマリンを最終濃度 1 % (v/v) となるように加えて固定した。検鏡は Utermöhl 法に従い、倒立顕微鏡 (Nikon ECLIPSE TE300) を用いて行った。すなわち、固定した試水を静かに攪拌し、そのうち 50 mL か 100 mL を Utermöhl チャンバーのシリンダーに分取し、24 時間以上静置してその中のプランクトンを完全に計数管底に沈殿させた。検鏡は 200 倍あるいは 400 倍で行い、出現した中心目珪藻類の栄養細胞を種ごとに分類・計数した後に密度 (cells L<sup>-1</sup>) に換算した。

## 結 果

### 海洋環境

2006 年 5 月の表面水温 (Fig. 2) は湾奥の St. 4 で 19.1°C, St. 5 で 19.5°C とやや高く、それ以外の測点では 17.8–18.4°C の範囲にあった。水温躍層はいずれの測点でも、表面から 4 m 深の間で形成されていた。4 m 以深では各測点とも水温に大きな差は見られず 16.0–17.6°C の範囲にあった。塩分 (Fig. 3) でも表面から 4 m 深の間で躍層が形成されており、表面では比較的 low 25.0–30.1 psu であり、4 m 以深では 32 psu 前後まで上昇し

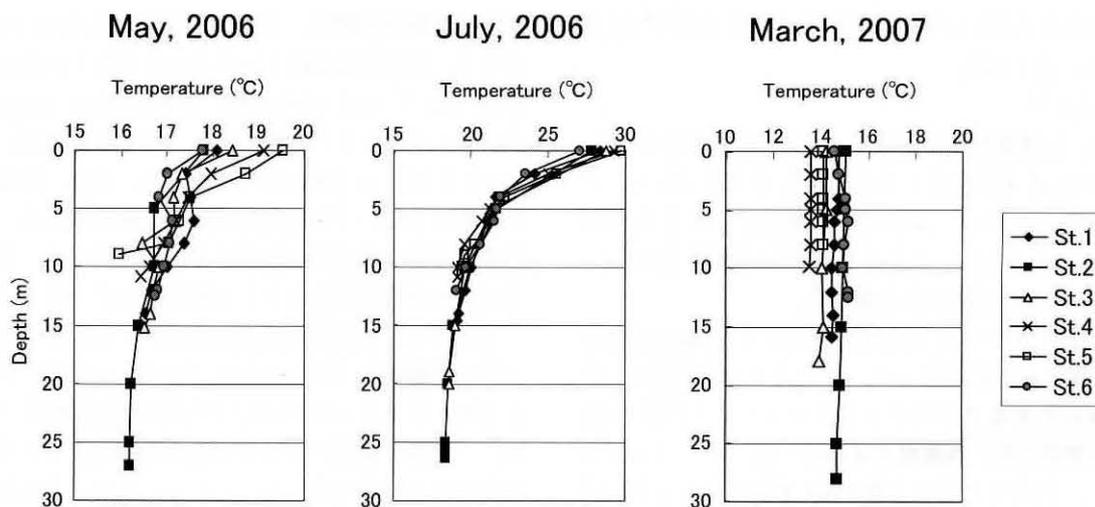


Fig. 2. Vertical distributions of temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) in May and July 2006, and in March 2007 at 6 sampling stations in Ago Bay.

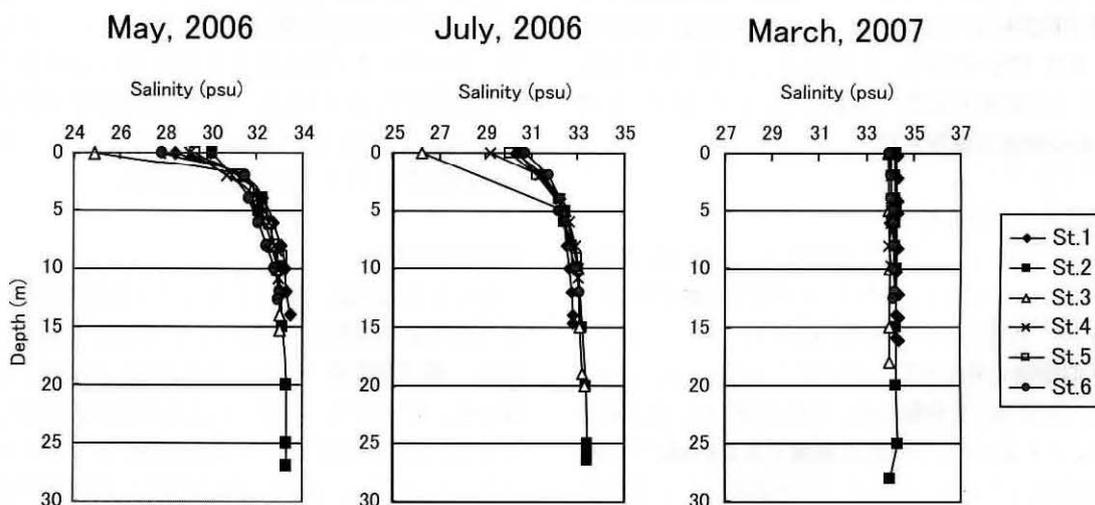


Fig. 3. Vertical distributions of salinity (psu) in May and July 2006, and in March 2007 at 6 sampling stations in Ago Bay.

た。2006年7月の表面水温は全測点で27.1–29.7 $^{\circ}\text{C}$ の範囲にあり、表面から4 m深の間で顕著な躍層が見られた。水深5 mでは各測点とも21 $^{\circ}\text{C}$ 台まで低下し、それ以深では18.4–21.7 $^{\circ}\text{C}$ の範囲でなだらかな低下が見られた。塩分でも水温と同様に表面から4 m深の間に躍層が確認され、表層は26.2–30.7 psuであり、4 m以深で32 psu前後となった。2007年3月は全測点において水深による水温の違いはほとんど見られなかった。測点間の違いも比較的小さく、13.5–15.2 $^{\circ}\text{C}$ の範囲にあった。塩分も同様に、測点・水深に関わらず34 psu前後の値であった。以上のように、観測点の水柱は、5月に成層化が始まり、7月には顕著に成層し、そして3月は混合し

ていたことが分かる。

各測点における海表面の光強度に対する海底上の相対光強度のうち、水深が14–28 mであるSts. 1–3では、いずれの月にも0.1–2.5%と他の測点に比べて低い値を示した (Table 1)。一方、水深が10 m前後と浅いSts. 4–6では相対光強度は比較的高く、5月と3月には10%を大きく超える場合が多かった。最大は、2007年3月のSt.5における30.2%であった。

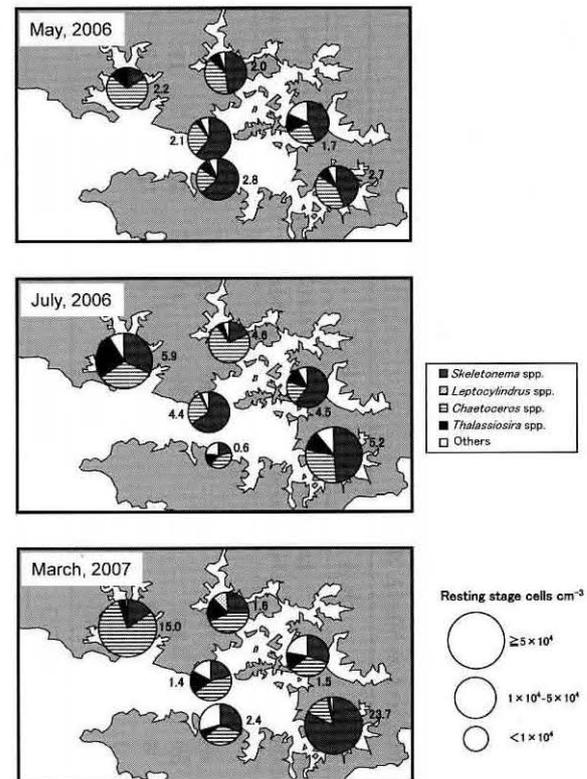
#### 休眠期細胞の分布

2006年5月、7月および2007年3月いずれの月にも全測点において、発芽・復活可能な休眠期細胞が分布

**Table 1.** Bottom depth, transparency and relative light intensity (RLI: %) at the surface of the sediment to that at the sea surface (100%) in May and July 2006, and in March 2007 at 6 sampling stations in Ago Bay.

Date	Station	Bottom depth (m)	Transparency (m)	RLI (%)
May, 2006	St.1	14.9	6.1	1.6
	St.2	27.2	9.6	0.8
	St.3	15.8	4.0	0.1
	St.4	10.8	7.0	7.3
	St.5	9.2	8.0	14.2
	St.6	12.7	12.0	16.5
July, 2006	St.1	14.7	5.2	0.8
	St.2	26.5	6.2	0.1
	St.3	20.1	6.3	0.4
	St.4	10.9	5.5	3.4
	St.5	10.0	5.8	5.3
	St.6	12.6	8.8	8.8
March, 2007	St.1	16.0	7.4	2.5
	St.2	28.0	6.8	0.1
	St.3	19.0	8.5	2.2
	St.4	10.1	9.5	16.4
	St.5	8.1	11.5	30.2
	St.6	12.6	9.8	11.2

していた (Fig. 4, Table 2). ただし, 休眠期細胞数は5月で  $1.7\text{--}2.8 \times 10^4$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$ , 7月で  $6.1 \times 10^3\text{--}5.9 \times 10^4$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$ , 3月には  $1.4 \times 10^4\text{--}2.4 \times 10^5$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  と, 月ごとに变化した (Fig. 4, Table 2). 底泥の培養により出現した細胞の種数は各月で異なり, 5月には6属18種, 7月には5属10種であり, 3月では最も多い7属22種であった (Table 3). 全ての出現種をまとめると8属25種であった (Table 3). これら珪藻種のうち, 4種 (*Chaetoceros decipiens*, *C. tortissimus*, *Melosira nummuloides*, *Skeletonema menzelii*) は, これまで休眠期細胞形成種として報告されていない. 種まで同定できなかった細胞はいずれも *Chaetoceros* 属と *Thalassiosira* 属に属するものであるが, その種数は少なかった. *Skeletonema* spp. と *Chaetoceros* spp. は全ての月に優占して出現し, 5月には両属を合わせて全体の67–90%, 7月では61–92%, 3月では64–96%を占めた (Fig. 4, Table 2). なお, *Skeletonema* spp. には *S. costatum* と *S. menzelii* が含まれるが (Table 3), そのほとんど全て (97%) が *S. costatum* であった (データは示していない). また, *Chaetoceros* spp. では主に *C. debilis*, *C. dictyosphaerula*, *C. socialis* が出現した. *Thalassiosira* spp. (優占種は未同定) は, 5月には全体の3–14%, 7月には1–25%, 3月には1–19%を占



**Fig. 4.** Distribution of resting stage cells of the centric diatoms, enumerated by the extinction dilution method, showing relative abundance of the dominant groups in surface sediments of Ago Bay in May and July 2006, and in March 2007. Numerals indicate the density of the resting stage cells ( $\times 10^4$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment).

めた (Table 2). *Leptocylindrus* spp. (主に *L. danicus*) の出現も各月に認められたが, 全体に占める割合は最大でも12% (2007年3月のSt.3)であり, それ以外では0–3%程度に過ぎなかった.

#### 栄養細胞の分布

栄養細胞の出現密度は, 2006年5月では表層, 中層, 下層とも少なくとも  $0.1\text{--}3.8 \times 10^4$  cells  $\text{L}^{-1}$  の範囲にあった (Fig. 5). 一方, 2006年7月では場所と水深で異なるが, 出現密度は大きく増加し  $2.0 \times 10^5$  cells  $\text{L}^{-1}$  以上の測点が多く見られた (Fig. 6). 2007年3月には湾口側の Sts. 1, 2 および 6 の3点で特に出現密度が高く, St. 2 の表層では  $1.0 \times 10^6$  cells  $\text{L}^{-1}$  を超えることもあった (Fig. 7). 反対に湾奥側の Sts. 3, 4 および 5 では密度は低く  $1.4\text{--}8.0 \times 10^4$  cells  $\text{L}^{-1}$  であった. 以上のように, 栄養細胞の出現密度には大きな時空間変化が見られた.

これら各月の各測点の表層, 中層および下層において

**Table 2.** Density of resting stage cells of dominant groups of centric diatoms (resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  wet sediment) and their relative abundance in the total number of resting stage cells (%) in surface sediments at 6 stations in Ago Bay in May and July 2006, and in March 2007.

Date	Station Group	St. 1		St. 2		St. 3		St. 4		St. 5		St. 6	
		Density	Relative abundance										
May, 2006													
	<i>Skeletonema</i> spp.	3,630	16	12,650	61	9,480	48	7,700	45	12,000	45	18,360	65
	<i>Chaetoceros</i> spp.	15,367	69	5,969	29	7,668	39	3,861	22	10,630	40	5,454	19
	<i>Thalassiosira</i> spp.	2,717	12	690	3	1,560	8	2,420	14	2,380	9	1,998	7
	<i>Leptocylindrus</i> spp.	220	1	0	0	0	0	0	0	0	0	486	2
	Others	194	1	1,472	7	1,070	5	3,240	19	1,870	7	2,116	7
	total	22,128		20,781		19,778		17,221		26,880		28,414	
July, 2006													
	<i>Skeletonema</i> spp.	18,870	32	28,600	65	8,690	19	26,840	60	25,200	48	1,320	21
	<i>Chaetoceros</i> spp.	19,403	33	11,843	27	33,143	71	8,845	20	15,552	30	2,448	40
	<i>Thalassiosira</i> spp.	14,930	25	585	1	2,090	5	5,612	13	5,220	10	936	15
	<i>Leptocylindrus</i> spp.	222	0	0	0	198	0	0	0	816	2	0	0
	Others	5,162	9	2,704	6	2,310	5	3,477	8	5,496	11	1,440	23
	total	58,587		43,732		46,431		44,774		52,284		6,144	
March, 2007													
	<i>Skeletonema</i> spp.	23,422	16	2,884	21	3,900	25	4,446	30	195,639	82	7,182	30
	<i>Chaetoceros</i> spp.	119,423	80	5,912	43	6,690	43	5,050	34	33,928	14	7,988	34
	<i>Thalassiosira</i> spp.	4,018	3	2,132	16	2,910	19	1,949	13	2,843	1	1,172	5
	<i>Leptocylindrus</i> spp.	1,107	1	391	3	1,850	12	0	0	0	0	252	1
	Others	1,931	1	2,348	17	200	1	3,306	22	4,892	2	7,006	30
	total	149,901		13,668		15,550		14,752		237,302		23,600	

Note: the total percentage of relative abundance is not always 100% because relative abundance for each dominant group is rounded. See Table 3 for species components of each dominant group. *Chaetoceros* spp. and *Thalassiosira* spp. include unidentified species.

**Table 3.** Compiled list of identified species of centric diatoms emerged from surface sediments of Ago Bay in May and July 2006, and in March 2007. Filled and open circles denote species which were also observed and not observed in vegetative population (cf. Table 4), respectively, on the corresponding month.

	May, 2006	July, 2006	March, 2007
<i>Biddulphia biddulphiana</i> (J. E. Smith) Boyer			○
<i>Chaetoceros affinis</i> Lauder	○	●	●
<i>C. brevis</i> Schütt			●
<i>C. compressus</i> Lauder	○	●	●
<i>C. constrictus</i> Gran			●
<i>C. curvisetus</i> Cleve	○	●	●
<i>C. debilis</i> Cleve	●		●
<i>C. decipiens</i> Cleve	○		
<i>C. diadema</i> (Ehrenberg) Gran	○		●
<i>C. didymus</i> Ehrenberg	○		●
<i>C. dichaeus</i> Ehrenberg	○	●	●
<i>C. lacinosus</i> Schütt	○		●
<i>C. lauderi</i> Ralfs	○		
<i>C. lorenzianus</i> Grunow	○	●	●
<i>C. seiracanthus</i> Gran			●
<i>C. socialis</i> Lauder	●	●	●
<i>C. tortissimus</i> Gran	○		●
<i>Ditylum brightwellii</i> (West) Grunow	●		
<i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve	●	●	●
<i>L. minimus</i> Gran			●
<i>Melosira nummuloides</i> C. A. Agardh	○	○	●
<i>Odontella aurita</i> (Lyngbye) C. A. Agardh	○	○	●
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve	●	●	●
<i>S. menzelii</i> Guillard, Carpenter & Reimann			●
<i>Thalassiosira rotula</i> Meunier			●

観察された栄養細胞のうち同定できた種は、5月では8属16種、7月では14属34種、3月では17属42種であった (Table 4)。なお、観測を通して同定された種を全て合わせると18属52種となった (Table 4)。その中で、優占的に出現したのは *Skeletonema* spp., *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp., *Leptocylindrus* spp. の4属であった。ただし、これら属でまとめた優占分類群の組成は以下に述べるように月ごとに異なった。5月には泥の中ではわずかしみ見られなかった *Leptocylindrus* spp. (主に *L. danicus*) が特に表層、中層で大きく優占する測点が多かった。一方、7月では *Leptocylindrus* spp. (主に *L. minimus*) のほか、*Skeletonema* spp. (主に *S. costatum*), *Chaetoceros* spp. (主に *C. debilis*), *Thalassiosira* spp. (優占種は未同定) の3つの分類群も大きな割合を占めることがあったが、それぞれの優占度は水平・鉛直的に不均一であった。3月になると優占分類群の組成はむしろ単純となり、各測点の各層において *Skeletonema* spp. (主に *S. menzelii*) と *Chaetoceros* spp. (主に *C. socialis* と *C. debilis*) の2属が大きく優占していた。

#### 底泥より出現した種と水柱中に出現した種との比較

5月に底泥から出現し種まで同定できた18種のうち、この月の水柱中で栄養細胞として出現が確認されたのは5種であった (Table 3)。すなわち、底泥から発芽・復活可能な種のうち28%が、水柱中で個体群を形成していたことになる。同様に解析したところ、7月では80% (底泥から出現した10種のうち水柱中で8種)、3月には95% (底泥から出現した22種のうち水柱中で21種) となった。また、各月の観測を通して底泥より出現が確認された種 (25種) のうち水柱中に出現した種は24種 (96%) であった。一方、底泥より確認された種数 (25種) は、本研究で水柱中より同定された全種数 (52種) のうち48%を占めることになる (ただし、休眠期細胞、栄養細胞双方の群集中にはそれぞれ未同定種があるので、正確な値を出すことは困難である)。なお、*Chaetoceros pseudocurvisetus* と *Paralia sulcata*, *Proboscia alata* の3種は栄養細胞群集中で休眠期細胞形成種として確認された (Table 4) もの、底泥からは確認されなかった (Table 3 参照)。

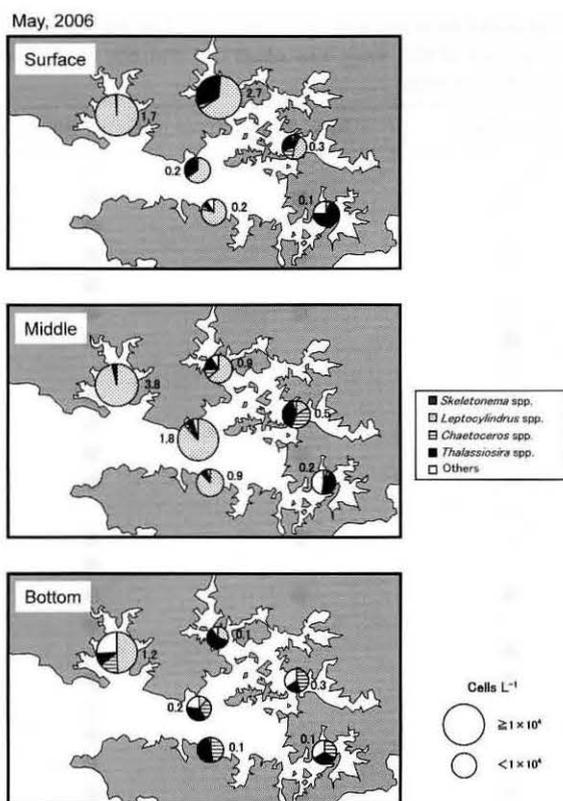


Fig. 5. Distribution of vegetative cells of the centric diatoms showing relative abundance of the dominant groups at three different depths in the water column of Ago Bay in May 2006. Surface and bottom mean 0 m depth and 1 m above the bottom, respectively, at all the stations and middle 5 m depth at Sts. 1–5 and 4 m at St. 6. Numerals indicate the density of the vegetative cells ( $\times 10^4$  cells L<sup>-1</sup>).

## 考 察

本研究により、英虞湾の底泥にはいずれの月においても常に発芽・復活可能な珪藻類の休眠期細胞が分布していることが明らかとなった。休眠期細胞の密度は月ごとに变化したものの、全体に  $6.1 \times 10^3$ – $2.4 \times 10^5$  resting stage cells cm<sup>-3</sup> の範囲にあり、これは本邦において珪藻類の休眠期細胞が高密度で分布している播磨灘 ( $4.6 \times 10^2$ – $3.4 \times 10^5$  resting stage cells cm<sup>-3</sup>) や北部広島湾 ( $0.7$ – $6.9 \times 10^5$  resting stage cells cm<sup>-3</sup>) (今井ほか 1990) と同等である。英虞湾における 1994 年 8 月の調査結果によると、底泥からは *Skeletonema costatum* と *Chaetoceros* spp., *Thalassiosira* spp. が優占的に出現した (板倉 2001)。本研究の結果もこれと同様であったことから、同湾の海底における休眠期細胞の優占分類群の組成は長年にわたって変化してい

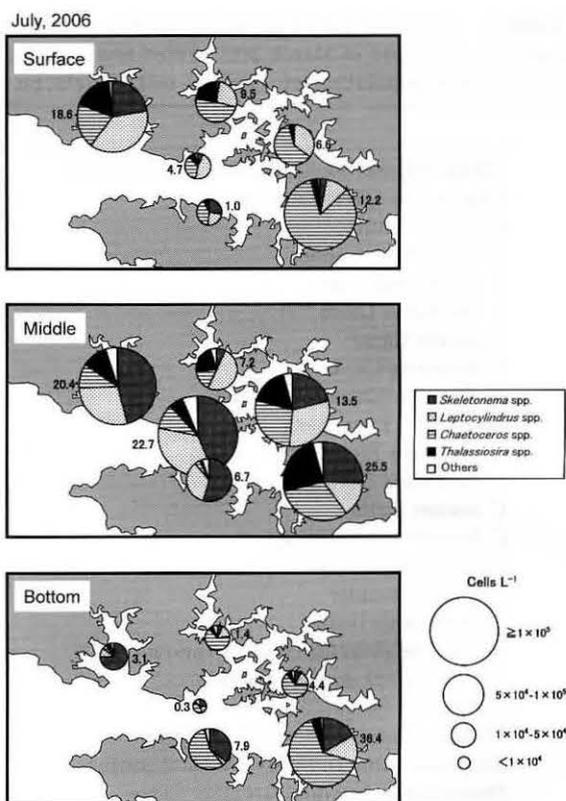


Fig. 6. As Fig. 5, but in July 2006.

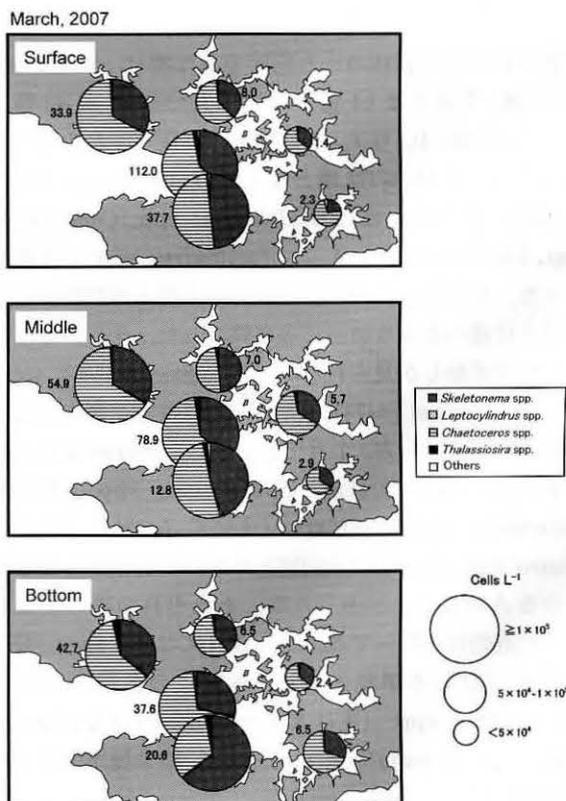


Fig. 7. As Fig. 5, but in March 2007.

**Table 4.** Compiled list of species of centric diatoms observed in vegetative population in Ago Bay in May and July 2006, and March 2007. Open circle denotes species which were observed in vegetative population on the corresponding month.

	May, 2006	July, 2006	March, 2007
<i>Actinopterychus senarius</i> (Ehrenberg) Ehrenberg*	○	○	○
<i>Bacteriastrum delicatulum</i> Cleve*		○	
<i>B. furcatum</i> Shadbolt*		○	
<i>B. hyalinum</i> Lauder		○	
<i>Chaetoceros affinis</i> Lauder*		○	○
<i>C. anastomosans</i> Grunow*		○	
<i>C. cf. atlanticus</i> Cleve	○		
<i>C. brevis</i> Schütt*			○
<i>C. compressus</i> Lauder*		○	○
<i>C. constrictus</i> Gran*			○
<i>C. curvisetus</i> Cleve*			○
<i>C. danicus</i> Cleve	○	○	○
<i>C. debilis</i> Cleve*	○	○	○
<i>C. decipiens</i> Cleve		○	○
<i>C. diadema</i> (Ehrenberg) Gran*			○
<i>C. dichaeus</i> Ehrenberg*		○	○
<i>C. didymus</i> Ehrenberg*		○	○
<i>C. lacinosus</i> Schütt*			○
<i>C. lauderi</i> Ralfs*		○	○
<i>C. lorenzianus</i> Grunow*		○	○
<i>C. messanense</i> Castracane			○
<i>C. neogracile</i> S. L. VanLandingham		○	
<i>C. pendulus</i> Karsten	○	○	○
<i>C. pseudocurvisetus</i> Mangin*			○
<i>C. seiracanthus</i> Gran*			○
<i>C. socialis</i> Lauder*	○	○	○
<i>C. tortissimus</i> Gran		○	○
<i>Chaetoceros</i> spp.		○	○
<i>Corethron hystrix</i> Hensen			○
<i>Coscinodiscus</i> spp.	○		○
<i>Dactyliosolen fragilissimus</i> (Bergon) Hasle	○	○	○
<i>D. phuketensis</i> (Sundström) Hasle			○
<i>Ditylum brightwellii</i> (West) Grunow*		○	○
<i>Eucampia cornuta</i> (Cleve) Grunow		○	○
<i>E. zodiacus</i> Ehrenberg			○
<i>Guinardia delicatula</i> (Cleve) Hasle	○	○	
<i>G. flaccida</i> (Castracane) H. Peragallo			○
<i>G. striata</i> (Stolterfoth) Hasle	○	○	○
<i>Hemiaulus hauckii</i> Grunow		○	○
<i>H. membranaceus</i> Cleve		○	
<i>Lauderia annulata</i> Cleve		○	○
<i>Leptocylindrus danicus</i> Cleve*	○	○	○
<i>L. mediterraneus</i> (H. Peragallo) Hasle	○	○	
<i>L. minimus</i> Gran*	○	○	
<i>Melosira nummuloides</i> C. A. Agardh			○
<i>M. moniliformis</i> (Müller) C. A. Agardh			○
<i>Odontella aurita</i> (Lyngbye) C. A. Agardh*			○
<i>Paralia sulcata</i> (Ehrenberg) Cleve*			○
<i>Proboscia alata</i> (Brightwell) Sundström*		○	
<i>Rhizosolenia pungens</i> Cleve-Euler	○	○	○
<i>Rhizosolenia</i> sp.			○
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve*	○	○	○
<i>S. menzelii</i> Guillard, Carpenter & Reimann			○
<i>Thalassiosira anguste-lineata</i> (A. Schmidt) G. Fryxell & Hasle	○		
<i>Thalassiosira rotula</i> Meunier*	○	○	○
<i>Thalassiosira</i> spp.	○	○	○
<i>Triceratium</i> sp.		○	

\*known resting stage cell-forming species

ないことがわかる。海底での存在密度で比較してみると、*Chaetoceros* spp. では1994年時に  $2.3 \times 10^3$ – $4.9 \times 10^4$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  であったのに対し、本研究が行われた2006年–2007年時には  $2.4 \times 10^3$ – $1.1 \times 10^5$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$ 、さらに *Thalassiosira* spp. では  $2.0 \times 10^2$ – $1.7 \times 10^3$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  であったのに対し、 $5.8 \times 10^2$ – $1.4 \times 10^4$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  と、ほぼ同程度である。しかしながらこれとは対照的に、*S. costatum* では  $2.0 \times 10^2$ – $7.8 \times 10^2$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  から  $1.3 \times 10^3$ – $2.0 \times 10^5$  resting stage cells  $\text{cm}^{-3}$  へと密度は著しく増加している。山田ほか(1980)によると、*S. costatum* は栄養塩濃度が非常に高い水域(過栄養水域)を指標する種であるとされている。この判定基準に従えば、英虞湾の水質が前回の調査(板倉2001)以降、過栄養になり、本種の栄養細胞が増加し、それに伴って休眠期細胞も増加したと考えることもできる。しかし、増田ほか(2004)は、同湾の栄養塩データを1981–2002年にかけて長期的に解析した結果、DINや $\text{PO}_4\text{-P}$ の濃度は顕著に変化していないことを見だし、また、一般的に富栄養とされている東京湾や大阪湾と比較しても、英虞湾は栄養塩(特にDIN)が少ない海域であることを報告している。したがって、英虞湾における*S. costatum* 休眠期細胞の存在密度の増加を栄養塩濃度の面からは説明することができない。この増加の原因について明らかにすることは、今後の興味ある課題である。

渦鞭毛藻類の休眠期細胞にあたる“シスト”の発芽には水温が大きな影響を及ぼす(Dale 1983)。珪藻類の休眠期細胞の場合、水温は発芽・復活に要する時間に影響を及ぼす(McQuoid & Hobson 1996)が、発芽・復活そのものを制御する決定的な要因であるかどうかなど、詳しいことは分かっていない。この発芽・復活に及ぼす水温の影響については今後明らかにしていく必要があるであろう。ただし、本研究に先立って、英虞湾の海底における季節的な水温変化幅に十分入る $10^\circ\text{C}$ から $30^\circ\text{C}$ の範囲で底泥を8日間培養したところ、様々な種が、それぞれ全温度範囲にわたって発芽・復活したことから、少なくとも同湾では水温が休眠期細胞の発芽・復活を律速する要因にはなっていないと推察される。

これまでの研究で、休眠期細胞の発芽・復活を誘引する第一義的な要因は光であることが明らかにされている(Hollibaugh et al. 1981, Imai et al. 1996)。Hollibaugh et al. (1981)は、珪藻類の*Chaetoceros* 属の3種を対象に実験を行い、それらの休眠期細胞は $1.3 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下の光強度では発芽しないことを見いだした。一般に、中緯度の夏季南中時における海面光強度は2000

$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度とされる(例えば、岸野・高橋1996)。本研究で調べた英虞湾の海底上の海表面に対する相対光強度は測点と時期によっても異なるが、最低の場合は0.1%であった(Table 1)。仮にこの $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ という値を用いると、その測点で海底まで届く光強度は $2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ となるので、休眠期細胞は海底上において発芽・復活するであろう。ただし、休眠期細胞は光の照射量が多いほど、その発芽・復活が促進され、また速やかに発芽・復活するので(Imai et al. 1996)、より浅くより光を受ける場所のほうが発芽・復活には有利となる。本研究では水深が10m前後の測点において海底の相対光強度が10%を超える測点がいくつか見られた。英虞湾の平均水深は9mであるので(大中1998)、湾全体として考えた場合、同湾の海底は、休眠期細胞にとっては発芽・復活しやすい環境であると考えられる。また、英虞湾は浅い水深のため、冬季の水柱における混合層は容易に海底にまで及び(Figs. 2, 3参照)、さらに風などの物理的要因によって水柱の攪乱も起こりやすい湾である。そのため、底泥は表層まで巻き上がりやすく、休眠期細胞はより光環境の良い場へ運ばれるであろう。これらのことから英虞湾の底泥における休眠期細胞群集はシード・ポピュレーションとして効果的に機能している可能性が極めて高い。

培養実験により底泥から出現した種のうち水柱中でも確認された種の割合は、5月では28%にとどまったが、7月は80%にもなり、3月に至っては95%と極めて高い値となった(Table 3)。底泥から発芽・復活した細胞が水柱中で増殖するには多少時間がかかるので、調査時点において底泥から出現が確認された種が、必ずしもその時そのまま栄養細胞群集中に検出されるとは限らない。本研究で5月に割合が低かったのはこのことに起因するのかもしれない。休眠期細胞の分類群組成と栄養細胞のそれとの間の類似性を検討するには、特に水柱中に出現する栄養細胞の調査を高頻度で行うことが望ましいが、それでも本研究で行った3回の調査を通してみたとき底泥より出現した全種のうち96%の種が水柱中にも出現したことは特筆すべきことである。ところで、本研究では、底泥中から休眠期細胞を形成することが知られていない種が4種確認されており(Table 3)、それらの種もここでは「底泥から出現した種」に含まれている。他の研究においても、底泥を培養した際、休眠期細胞の形成が知られていない種が多数増殖することが確認されている(Lewis et al. 1999)。すなわち、底泥中にはまだ多くの休眠期細胞形成未報告種が存在しているはずであり、本研究における当該種もそういった種である可能性

がある。ただし、水柱中から底泥上に沈降してそこで生存していた栄養細胞を底泥とともに採取してしまい、それらが培養開始まで保存した期間（2-6日間）を生残した結果、増殖した可能性も否定できない。しかし、もしそうであっても、当該種は底泥を培養して出現してきたことに違いないことから、シード・ポピュレーションを構成する種として認識しても良いであろう。つまり、底泥から出現した種のうち96%の種が水柱中に出現するという事実は、上述の「英虞湾の底泥における休眠期細胞群集はシード・ポピュレーションとして効果的に機能している」という仮説を強く支持するものである。なお、栄養細胞群集中に休眠期細胞形成種が存在したものの、底泥からは確認されない種もあった (Tables 3, 4)。この場合、英虞湾の底泥中に低い密度で休眠期細胞を温存しているものと考えられる。事実、St. 6における底泥の直接検鏡により *P. sulcata* の存在が確認されている (石川 未発表)。今後、休眠期細胞群集に関するさらに緻密な調査を行うことで、シード・ポピュレーションの分類群組成の詳細が明らかになるはずである。

底泥から出現した種が水柱中にも出現する割合が高い一方で、底泥中の優占分類群と水柱中3層それぞれの層で観察された優占分類群とが必ずしも合わなかったことも事実である (Figs. 4-7)。一般に、珪藻の増殖は水温、塩分、光といった物理的要因、栄養塩といった化学的要因、そして捕食、競争といった生物的要因によって制御されている。つまり、休眠期細胞が発芽・復活することにより水柱中へ供給されたある種の栄養細胞が他種よりも優占できるかどうかは、栄養細胞自身の増殖動態によって決定されるであろう。英虞湾では、水平・鉛直的な水温、塩分 (Figs. 2, 3) ならびに光環境 (Table 1) が季節的に大きく変化する。同様に、栄養塩濃度の変動も著しい (谷村ほか 2008)。さらに、季節によっては珪藻類の競争相手となる鞭毛藻類の大増殖が観察される。このように、珪藻類を取り巻く英虞湾内の環境条件は時空間的にまさしく不均一ということであり、それぞれの場所 (測点) ではやはりそれぞれの環境にフィットした種が大きな個体群を形成することに成功するはずである。したがって、底泥中の優占分類群と水柱中のそれとが必ずしも合わないからといってそれは不自然なことではないと考えられる。現在、英虞湾では海底から発芽・復活してくる珪藻類の細胞を直接捕らえるため、新たに開発された“PETチャンバー (plankton emergence trap/chamber)” (Ishikawa et al. 2007) を用いて調査が行われている。これにより休眠期細胞の発芽・復活量と栄養細胞の出現密度との数的関係が将来明らかにされるもの

と期待される。

英虞湾の湾口部は狭いながらも熊野灘に面して開いているため、湾外からの海水の流入が湾内の栄養細胞群集組成に強く影響を与えるものと推察される。実際、細胞の存在が黒潮の指標となる *Chaetoceros messanensis* や *C. pendulus*, *Guinardia flaccida* が本研究で観察されている (Table 4) ことは、黒潮から直接ではないにしても、黒潮の影響を受けた沿岸水が英虞湾内に入ってきた証拠となるものである。すなわち同湾では、このような異地性種が多く流入してくるために、珪藻類群集の多様性が高くなるのである (Table 4)。それにもかかわらず出現種の約半数 (48%) が土着性種 (休眠期細胞形成種) によって占められていたということは、同湾の珪藻類群集における多様性の基盤そのものが、底泥に温存されている“シード・ポピュレーション”によって支えられていることを示していると言えよう。

## 謝 辞

現場調査を行うにあたり、様々な便宜を図っていただいた三重大学大学院水産実験所の木村清志教授はじめ同実験所スタッフの方々に深く感謝の意を表します。現場調査では三重大学大学院生物資源学研究所生物海洋学教育研究分野の学生諸氏ならびに京都大学大学院農学研究科の石井健一郎氏に多大なご協力をいただきました。また、本稿を改訂するにあたり校閲者の方々には貴重なコメントを頂きました。記して謝意を表します。

なお、本研究は文部科学省科学研究費補助金 (課題番号 18580180) の援助により行われた。

## 引用文献

- Dale, B. 1983. Dinoflagellate resting cysts: "benthic plankton", pp. 69-136. In *Survival Strategies of the Algae* (ed. Fryxell G. A.). Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Guillard, R. R. L. & J. H. Ryther 1962. Studies on marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* 8: 229-239.
- Hargraves, P. & F. W. French 1983. Diatom resting spores: significance and strategies, pp.49-68. In *Survival Strategies of the Algae* (ed. Fryxell G. A.). Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Hollibaugh, J. T., D. L. R. Seibert & W. H. Thomas 1981. Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) species. *J. Phycol.* 17: 1-9.
- 今井一郎 1990. 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態学的研究. 南海海区水研報 No. 23: 63-166.
- 今井一郎・板倉 茂・伊藤克彦 1990. 播磨灘および北部広島湾の底泥中における珪藻類の休眠細胞の分布. 沿岸海洋研究

- ノート 28: 75-84.
- Imai, I., K. Itoh & M. Anraku 1984. Extinction dilution method for enumeration of dormant cells of red tide organisms in marine sediments. *Bull. Plankton Soc. Japan* **31**: 123-124.
- Imai, I., S. Itakura, M. Yamaguchi & T. Honjo 1996. Selective germination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) cysts in bottom sediments under low light conditions: a possible mechanism of red tide initiation, pp. 197-200. In *Harmful and Toxic Algal Blooms* (eds. Yasumoto, T., Y. Oshima & Y. Fukuyo). Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO of UNESCO, Paris.
- Ishikawa, A., M. Hattori & I. Imai 2007. Development of the "plankton emergence trap/chamber (PET Chamber)", a new sampling device to collect in situ germinating cells from cysts of microalgae in surface sediments of coastal waters. *Harmful Algae* **6**: 301-307.
- 板倉 茂 2000. 沿岸性浮遊珪藻類の休眠期細胞に関する生理生態学的研究. 瀬戸内水研報 No. 2: 67-130.
- 板倉 茂 2001. 内湾における水質環境の変化と植物プランクトン生態系. 月刊海洋 **33**: 393-398.
- 板倉 茂・今井一郎 1994. 1991年夏季播磨灘の海況と表層水中における浮遊性珪藻類 *Chaetoceros* 休眠胞子の分布. 水産海洋研究 **58**: 29-42.
- Itakura, S., I. Imai & K. Itoh 1997. "Seed bank" of coastal planktonic diatoms in bottom sediments of Hiroshima Bay, Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biol.* **128**: 497-508.
- Kamiyama, T. 1996. Determination of the abundance of viable tintinnid cysts in marine sediments in Hiroshima Bay, the Seto Inland Sea of Japan, using a modified MPN method. *J. Plankton Res.* **18**: 1253-1259.
- 岸野元彰・高橋正征 1996. 光利用と光合成. 月刊海洋号外 **10**: 40-49.
- Lewis, J., A. S. D. Harris, K. J. Jones & R. L. Edmonds 1999. Long-term survival of marine planktonic diatoms and dinoflagellates in stored sediment samples. *J. Plankton Res.* **21**: 343-354.
- 増田 健・山形陽一・畑 直垂 2004. 英虞湾の水質環境の特徴および長期変動. 三重科技セ水研報 No. 11: 23-32.
- McQuoid, M. R. & L. A. Hobson 1996. Diatom resting stages. *J. Phycol.* **32**: 889-902.
- 大中澄美子 1998. 英虞湾における環境変化と現況. 水産海洋研究 **62**: 429-434.
- Sverdrup H. U., M. W. Johnson & R. H. Fleming 1942. *The Oceans: Their Physics, Chemistry, and General Biology*. Prentice-Hall, New York, 1087 pp.
- 谷村 篤・向山礼美・石川 輝・田口和典・今井 直 2008. 英虞湾におけるサイズ別クロロフィル *a* 濃度の季節分布. 水産海洋研究 **72**: 1-13.
- Thronsdon, J. 1978. The dilution-culture method, pp. 218-224. In *Phytoplankton Manual* (ed. Sournia, A). UNESCO, Paris.
- 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一 1980. 植物プランクトンの富栄養階級表. 日水誌 **46**: 1435-1438.
- Yokoyama, H. & H. Ueda 1997. A simple corer set inside an Ekman Grab to sample intact sediments with the overlying water. *Benthos Res.* **52**: 119-122.