

— 論 文 —

熱帯・亜熱帯性海産珪藻 *Skeletonena tropicum* の 温帯域内湾 (洞海湾) における生存戦略 *

山田 真知子 † ・ 香月 絵理 † ・ 大坪 繭子 † ・
濱田 建一郎 ‡ ** ・ 上田 直子 ‡ ・ 門谷 茂 **

要 旨

熱帯・亜熱帯性海産珪藻の *Skeletonena tropicum* 栄養細胞についてモニタリング調査を 16 年間 (1991~2006 年) にわたり温帯海域の洞海湾で行った結果, *S. tropicum* は 7 月から 10 月の夏季から初秋を中心に出現し, 冬季から春季には出現しないという規則的な季節的消長を示した。生存に不適な低水温期には, *S. tropicum* は休眠期細胞となって海底堆積物中で越冬した。*S. tropicum* の休眠期細胞は夏季に 2.9 mg g^{-1} という高濃度の硫化物 (AVS) に曝された後にも発芽が可能で, 有機汚濁に対して耐性が認められた。また発芽は, 高水温で光照射がある場合に可能であった。栄養細胞は $\text{NH}_4\text{-N}$ が $711 \mu\text{M}$ と他の植物プランクトンが増殖阻害を受けるような水質にもよく適応し, 濃密な赤潮を形成した。*S. tropicum* は上記のような生存戦略をとることにより, 温帯海域の富栄養化の進行した洞海湾に定着していると考えられる。

キーワード: *Skeletonena tropicum*, 生存戦略, 温帯海域, 越冬休眠期細胞, 汚濁耐性

1. はじめに

熱帯性・亜熱帯性の海産珪藻類の *Skeletonema tropicum* (Sarno *et al.*, 2005) は大西洋西部の赤道付近から北緯 30 度までの海域に分布しているが, このように限られた出現は *S. tropicum* の培養が 13°C 以下では不可能であることに裏付けられているとされた (Hurburt and Guillard, 1968; Guillard *et al.*, 1974)。ところが Ueno (1993) は, 我が国の八代海, 有明海, 唐津湾, 洞

海湾, 下関漁港, 萩湾, 広島湾, および函館湾の計 8 か所におよぶ内湾域に, 赤潮形成には見られないものの, *S. tropicum* が 7 月から 11 月にわたって出現することを報告した。さらに, 山田・梶原 (2004) は, 洞海湾での 1980 年から 15 年間にわたる植物プランクトンのモニタリング調査において *S. tropicum* が赤潮を形成していることも確認し, 熱帯・亜熱帯性種でありながら温帯域の内湾の代表的な植物プランクトンの一種となっていることを報告した。このように太平洋の北緯 30 度以北に位置する内湾域に *S. tropicum* が出現する理由として, Ueno (1993) は西太平洋の熱帯・亜熱帯域での *S. tropicum* の分布については今後調査されなければならないが, これらの海域から *S. tropicum* が黒潮そして対馬暖流によって我が国の内湾域に運ばれることを

* 2008 年 5 月 28 日 受領; 2008 年 11 月 8 日 受理

著作権: 日本海洋学会, 2009

† 公立大学法人福岡女子大学人間環境学部

〒 813-8529 福岡市東区香住ヶ丘 1-1-1

主著者 e-mail address: m-yamada@fwu.ac.jp

‡ 公立大学法人北九州市立大学国際環境工学部

〒 808-0135 北九州市若松区ひびきの 1-1

** 北海道大学大学院水産科学研究科・環境科学院

〒 060-0810 札幌市北区北 10 条西 5 丁目

推測した。しかし、我が国沿岸海域での *S. tropicum* の出現が継続的なものであるかの確認や栄養細胞が消失する期間の生活史などについては、今後の研究課題として残された。

Skeletonema 属の分類については, Sarno *et al.* (2005, 2007) によって電子顕微鏡観察と rDNA 解析を用いた同定法が提案され, 現在, 本属には 11 種存在することが報告されている。このため, 従来から光学顕微鏡観察によって同定されてきた *Skeletonema costatum* はコスモポリタン種ではなく新種を含め 8 種の *Skeletonema* から構成されていることが明らかにされた。そこでこれまで *S. costatum* (以後, 広義と記す。) として同定され報告されてきた多くの論文について見直しの必要性が指摘 (Sarno *et al.*, 2005, 2007) され, 世界の植物プランクトンの株保存所に保管されているものをはじめ *Skeletonema* 184 株が新手法を用いて同定が試みられている (Kooistra *et al.*, 2007)。このようななか, *S. tropicum* は Fig. 1 に示すように葉緑体の数が他の *Skeletonema* と比較し多いため, 光学顕微鏡観察でも同定が可能とされている (Sarno *et al.*, 2005)。実際, *S. tropicum* の 1 細胞当たりの葉緑体の数は Hurburt and Guillard (1968) や Hasle (1973) によれば通常 5~7 個, 時には 10~15 個とされている。同様に, Guillard *et al.* (1974) は葉緑体数を通常 4~6 個として, 1~2 個しかもたない *S. costatum* (広義) と区別した。そこで, 本稿では葉緑体が 1 細胞当たり 4 個以上観察された場合に *S. tropicum* として同定して計数した。なお, 2005 年 11 月に洞海湾から海底堆積物を採取しこれから発芽した *Skeletonema* 属の 1 株ならびに 2007 年 10 月に洞海湾の海水から分離した *Skeletonema* 属の 8 株の計 9 株は, 光学顕微鏡により葉緑体が 1 細胞当たり 4 個以上あることを確認後 Sarno *et al.* (2005) の方法に準じて同定を試みた結果, 全ての株が *S. tropicum* と同定された。Sarno *et al.* (2005) の新しい同定法によれば, 我が国の沿岸海域では *S. dohrnii* など 4 種の *Skeletonema* 属が出現する (Kooista *et al.*, 2007) とされているが, *S. tropicum* はこれらには含まれておらず, rDNA 解析など新しい同定方法を用いた同定結果としては今回が初めての報告となる。

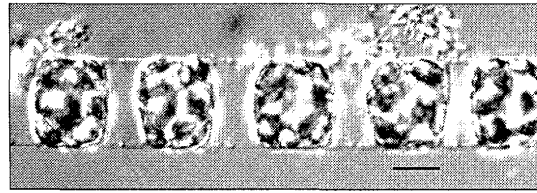


Fig. 1. *Skeletonema tropicum* from Dokai Bay. Scale bar: 10 μ m.

S. tropicum が赤潮を形成する洞海湾は, 富栄養化が著しいため赤潮生物の種類が限定されており (山田・梶原, 2004), また堆積物の有機汚濁も著しく進行しているため見出される植物プランクトンの休眠期細胞も劣悪な堆積物環境に耐性を持つ種類に限定されている (門谷, 2005)。そこで, このような洞海湾において 1991 年から 16 年間にわたって *S. tropicum* 栄養細胞のモニタリング調査を行い, 出現特性や出現する水質を明らかにした。さらに, その生活史についても調査や実験を行い, *S. tropicum* の生存戦略を検討し, 富栄養化の著しく進行した温帯海域での *S. tropicum* の出現機構の解明を試みた。

2. 方法

2.1. 水質と *S. tropicum* の栄養細胞調査

本研究の対象種である *S. tropicum* 栄養細胞の季節的・経年的な出現状況を明らかにする目的で, 行政上定められている水質環境基準点 D6 (Fig. 2 の★印) の表層において, 1991 年 1 月から 2006 年 12 月までの 16 年間にわたり毎月 1 回モニタリング調査を行った。また, *S. tropicum* の水平・鉛直分布については 1994 年 8 月 31 日, 1995 年 8 月 31 日と 9 月 1 日, および 1998 年 8 月 20 日の 4 回にわたり, Fig. 2 に●印で示す 8 定点のうち Sta. 5B を除く 7 定点において表層はポリバケツで, それ以深は 2 m ほどの層でバンドン型採水器を用いて採水した試料について調査した。なお, これらのトランセクト調査における 7 調査地点の水深は最大 10 m であった。また 1994 年には 6 月 16 日から 9 月 16 日まで 1 週間毎に計 13 回にわたり, 湾奥部の Sta. 6

において表層から水深 2 m 毎に設定した測定層で同様の調査も実施した。なお、これらの調査時には物理化学的水質調査も同時に行った。

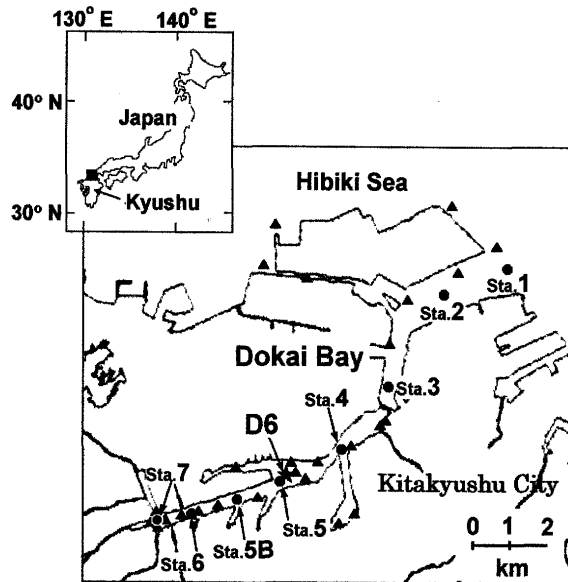


Fig. 2. Location map of sampling stations in Dokai Bay and adjacent area.

Star(★), environmental standard point D6 in Dokai Bay; triangle(▲), sediments sampling points in 1989; circle(●), sea water and sediment sampling points in 1994, 1995, 1996, 1998 and 2006.

水質測定項目及び測定方法は、D6でのモニタリング調査では、水温と塩分の測定を海洋観測指針(気象庁, 1970)に準拠して行い、全窒素(以後 TN)濃度は JIS K 0102. 45. 4 銅カドミウムカラム還元-ナフチルエチレンジアミン吸光度法(日本規格協会, 1992)で、全リン(以後 TP)濃度の分析は JIS K 0102. 46.3.1 ペルオキソ二硫酸カリウム分解法(日本規格協会, 1992)で分析した。また、トランセクト調査では硝酸態窒素(以後 $\text{NO}_3\text{-N}$)と亜硝酸態窒素(以後 $\text{NO}_2\text{-N}$)、アンモニア態窒素(以後 $\text{NH}_4\text{-N}$)およびリン酸態リン(以後 $\text{PO}_4\text{-P}$)などの栄養塩の分析を、Tecnicon Auto Analyzer を用いて Strickland and Parsons (1972)の方法で分析した。

採水法により *S. tropicum* を採集し、ヨウ素やオス

ミウム酸を主体とした固定液(安達, 1980)やホルマリンで固定、濃縮した試料について、光学顕微鏡を用いて計数を行った。なお、*S. tropicum* が赤潮を形成しているかどうかは海面の着色と *S. tropicum* の密度との関連を検討し、*S. tropicum* が $4,000 \text{ cells mL}^{-1}$ 以上観察される場合に赤潮形成と判定した。

2.2. *S. tropicum* 休眠期細胞の分布、発芽条件および底質環境との関わり

1989年5月30, 31日に Fig. 2の▲印を示す26地点で、1996年8月22日および2006年11月1日には湾内の7定点(●印)でKK式柱状採泥器を用いて採泥を行った。

発芽可能な休眠期細胞の計数は、表層堆積物(1989年は0~2.5 cm, 1996年と2006年は0~1.0 cm)を冷暗所(1989年と1996年は 11°C , 2006年は 7°C)で75~85日間保存後、Imai *et al.* (1984)が報告した最確数法(MPN法)で行い、発芽数を MPN g^{-1} で表示した。培養液は PES 培養液(飯間, 2004)を用い、培養容器はコーニング社の γ 線滅菌済み48穴マイクロプレートを使用した。培養温度は1989年と1996年は 23°C と 11°C , 2006年は 26°C と 10°C の2段階を設定した。培養の光条件は白色蛍光灯により約 $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (14時間明・10時間暗)の光照射条件と、24時間暗条件の2実験区を設定した。なお、*S. tropicum* の発芽は倒立光学顕微鏡および微分干渉顕微鏡観察を併用して確認した。また1989年の発芽実験については、*S. tropicum* 以外の *Skeletonema* 属が多量に発芽・増殖し *S. tropicum* がこれらに隠れて発芽を確認できない可能性もあったため、各調査地点の発芽可能な休眠期細胞の密度は堆積物の希釈倍率を10倍から100,000倍に設定して、発芽数を推定した。

これらの試料については同時に堆積物の物理化学的分析も行い、1996年と2006年の試料は含水率を底質調査方法(環境庁水質保全局, 1988)に従い、また酸揮発性硫化物(以後 AVS)は検管法(門谷, 2004)で分析した。2006年の堆積物試料は、塩酸処理を施し無機炭素を除去した後に有機炭素含有量(以後 Org. C)と有機窒素含有量(以後 Org. N)を自動元素分析装置(Thermo Finnigan, FLASH EA1112)を用いて測定した。

洞海湾の海水中の光量子量については、ライカ社製のLI-250 (球形光量子センサーはLI193SA/B) を用いて、2000年4月20日、6月21日および8月23日の3回にわたり実施されたトランセクト調査の結果を参考にした。

3. 結果と考察

3.1. *S. tropicum* 栄養細胞の出現状況

3.1.1. 季節的消長と分布

Fig. 3 (a) に示すように、調査を実施した16年間のすべての年で *S. tropicum* の栄養細胞の出現が認められた。その出現頻度は8, 9, 10月の3か月間に最も高く、11月以降は激減し12月から6月の7か月間は出現がほとんどみられないという明瞭な季節的消長が認められた。また、出現密度は8月と9月に極めて高く、とくに8月には16か年の調査のうち8か年という高頻度で赤潮の形成が認められた。

1994年から夏季に4回実施した *S. tropicum* 栄養細胞の湾内の分布調査では、いずれも *S. tropicum* による赤潮形成が認められた。一例として1994年8月の調査結果を Fig. 4 に示す。*S. tropicum* は湾口部の Sta. 1 を除いて Sta. 2 から Sta. 7 までの湾内全調査地点において4 m 以浅の測定点で4,000 cells mL⁻¹ 以上の密度となって赤潮を形成し、水深1 m 以浅の表層では10,000 cells mL⁻¹ 以上と濃厚な赤潮を形成していた。以上のことから、洞海湾における *S. tropicum* は夏季を中心に毎年定期的に出現し、ほぼ湾内全域で濃密な赤潮を形成する場合もあることがわかった。

3.1.2. *S. tropicum* 栄養細胞と水質との関係

洞海湾 (Sta. D6) における16年間のモニタリング調査で、水温の季節変化と *S. tropicum* の出現の認められた水温を Fig. 3 (b) に示す。洞海湾では1年間において、水温は2月の8.4°Cから8月の30.0°Cの間を推移した。また、*S. tropicum* が海水温度の上昇期に海水中ではじめて観察されるようになった水温は19.5°C、赤潮形成が認められるようになった最も低い水温は25°C

であり、水温の下降期に赤潮形成が最後に認められたのは22.5°C、海水から消失したのは12.5°Cであった。このことから、*S. tropicum* が海水中にはじめて出現する水温やはじめて赤潮を形成する水温は、海水から消失する水温や年間最後の赤潮形成水温より高いことが示された。また、*S. tropicum* は冬季の12月と翌月の1月にそれぞれ1回出現が認められた (Fig. 3 (a))。これら両月の水温は順に14.5°Cと12.5°Cと冬季の水温としては比較的高く、Hurburt and Guillard (1968) が示した *S. tropicum* の生育が不可能となる水温13°Cに近似した。また、Ueno (1993) の調査においても、低密度ではあったが12°Cまで下関漁港で出現がみとめられており、*S. tropicum* は水温の下降期には12°C程度まで出現が可能であることがわかる。

赤潮は Fig. 3 (b) と Fig. 5 に示されるように、水温22.5~29.5°Cの場合に認められ、*S. tropicum* は高水温期に赤潮を形成することが示された。洞海湾ではエスチュアリー循環が卓越し、わずか2.0~2.5日で表層水が湾奥部から湾口部に流出する (柳・山田, 2000) ため、1.0 div. d⁻¹ を上回る増殖速度を持つ植物プランクトンのみが現存量を増加させることが報告されている (多田ら, 2004; 2007)。実際、Hurburt and Guillard (1968) の培養実験結果によれば、培養温度が22.2~33.8°Cでは *S. tropicum* の分裂速度は2.2~3.0 div. d⁻¹ と高く、また多田ら (2004) の *S. tropicum* の培養実験においても培養温度が25°Cの場合の分裂速度は2.6 div. d⁻¹ であった。このような高い分裂速度を有することが、本種が海水交換速度の速い洞海湾で赤潮を形成することができる理由であろう。

S. tropicum の出現や赤潮の認められた水質を Fig. 5 に示す。水温、塩分、TNおよびTPは、1991年から16年間にわたりD6表層で行なった毎月1回の調査から、栄養塩は1994年から1998年の夏季に4回行ったトランセクト調査ならびにSta. 6で表層と表層から2 m 毎の層において1994年の6月から9月まで1週間毎に13回実施した調査から得たデータである。*S. tropicum* が赤潮を形成したときの塩分は21.7~31.5と広範囲に及んでおり、*S. tropicum* が広塩性で汽水域から海域にわたって旺盛に増殖できることを示す。赤潮形成が認められた海水のTNは1.8~12 mg L⁻¹、TPは0.03~0.27

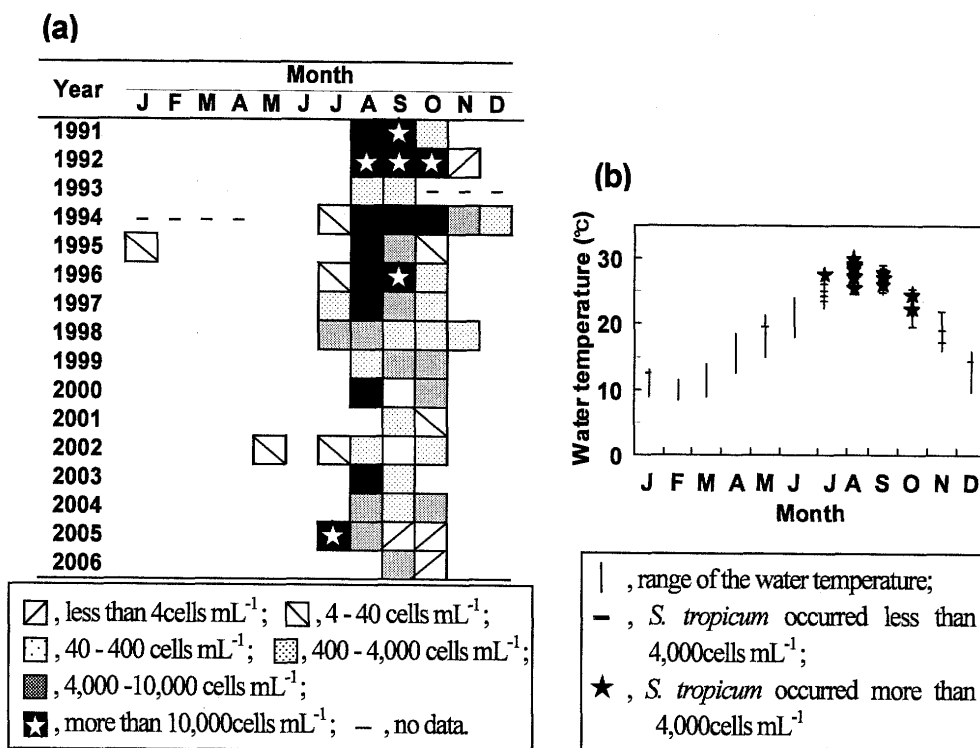


Fig. 3. Occurrence of *S. tropicum* at the surface water of Sta. D6 in Dokai Bay during 1991 and 2006. (a) Cell density in each month. (b) Seasonal variation in water temperature and occurrence of *S. tropicum*.

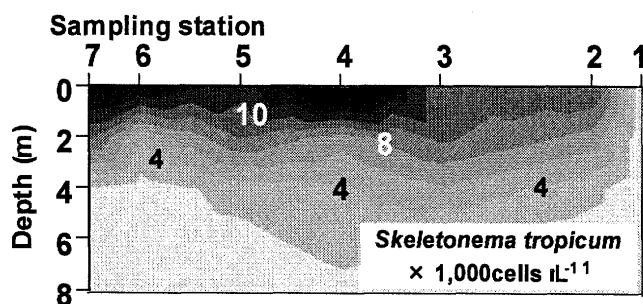


Fig. 4. Cross section of cell density of *S. tropicum* along the sampling stations arranged in a longitudinal direction in Dokai Bay on 31 August 1994.

mg L⁻¹ と広範囲であったが、これらの値は TN および TP の水質環境基準の第 IV 類型基準値 1 mg L⁻¹ およ

び 0.09 mg L⁻¹ に比較すると極めて高く、*S. tropicum* が高濃度の TN および TP 環境においても赤潮を形成できることが示される。なお、TN が 12 mg L⁻¹ という高濃度の海域は、我が国沿岸域では洞海湾を除き東京湾のクリーク (山田・徳崎, 1993) で報告があるのみである。

赤潮発生の認められた NH₄-N は 4.7~711 μM, NO₂-N+NO₃-N は 11~344 μM, PO₄-P は 0.19~10.4 μM と、いずれの項目も濃度は広範囲にわたり、それらの最高値は我が国の他の海域 (山田・徳崎, 1993) に比較すれば極めて高かった。培養実験による *Skeletonema* 属の NH₄-N に対する増殖応答は、大阪湾から分離された *S. costatum* 2 株 (広義)(深尾ら, 2007) の場合、1,000 μM では収量は低下するものの生存が可能であり 500 μM で最大細胞収量もしくはそれに近い収量が得られたと報告されている。北九州市周辺海域から分離された

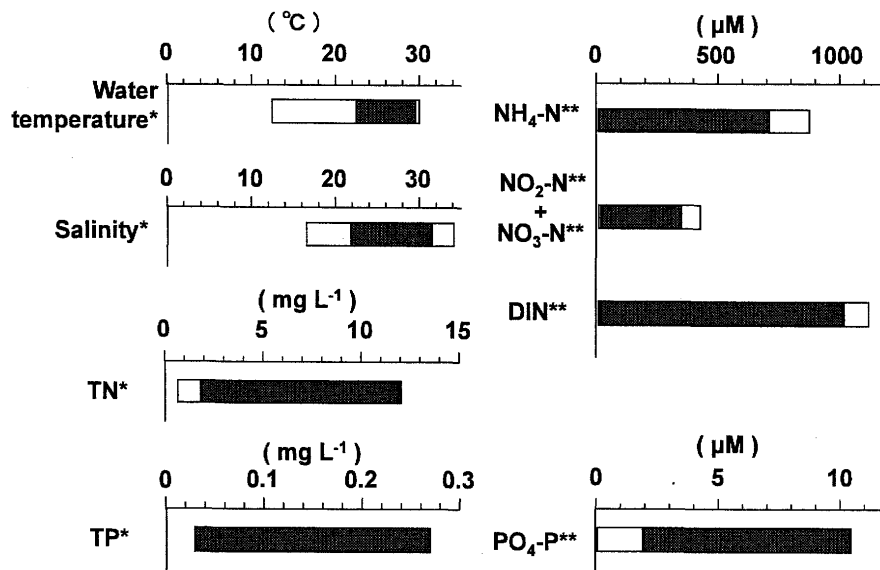


Fig. 5. Occurrence ranges of water quality for *S. tropicum* vegetative cells in Dokai Bay.

* , Data were taken from samples of surface water at D6 once a month from 1991 to 2006. ** , Data were taken from samples of four transect investigations in summer in 1994, 1995, and 1998 and from samples at Sta. 6 once a week from Jun to September in 1994. ■ , *S. tropicum* formed a red tide. □ , *S. tropicum* occurred but didn't form a red tide.

S. costatum 8株 (広義)(山田, 1987)についても, NH₄-N に対して同様の培養実験結果が得られた。一方, 深尾ら (2007) は, ラフィド藻の *Chattonella antiqua* や *Fibrocapsa japonica* は NH₄-N が 500 μM では増殖できず, 渦鞭毛藻の *Karenia mikimotoi* や *Prorocentrum minimum* は NH₄-N が 500 μM では収量が低下し, 最大の収量はそれぞれ 50 μM と 100 μM で認められたことを報告している。これらのことから, *S. costatum* (広義) は NH₄-N に対し高い耐性をもっていることがわかる。*S. tropicum* は, 洞海湾においては NH₄-N が 711 μM という高濃度において赤潮形成が可能であり, このことは *S. tropicum* が他の *Skeletonema* 属と同様に NH₄-N に対し高い耐性と利用能をもっており, このような洞海湾の水質で増殖できる生理特性を具備していることを示す。なお, 深尾ら (2007) が培養実験に用いた *S. costatum* 2株 (NIES323 と NIES324) は, Kooistra et al. (2007) により *S. dohrnii* と同定されている。

3.2. *S. tropicum* 休眠期細胞の発芽と分布

S. tropicum の生活史の検討は, 次のような推定に基づいて行った。*S. tropicum* は温帯海域では, 前述のように, 海水中に7月から11月までの5か月間しか観察されない (Ueno, 1993)。珪藻類では栄養細胞として水中に存在しない場合, 堆積物中で休眠している種類が報告 (Hargraves and French, 1983; Garrison, 1984) されている。実際, *S. tropicum* と同属の *S. costatum* (広義) は連続暗黒培養条件下でも一定期間生残し (Garrison, 1984), 今井ら (1990) や板倉ら (1992) は *S. costatum* (広義) の休眠細胞の存在を顕微鏡観察により確かめ, 堆積物中から観察されたのはすべてが休眠細胞であったとしている (板倉, 2000)。一方, *S. tropicum* については休眠細胞の観察はなされておらず, その存在はまだ確かめられていない。しかし, 洞海湾で採取された海底堆積物を培養したところ, 培養液中に大量の *S. tropicum* 栄養細胞の出現が観察された。今回行った実験では, 採取した堆積物試料はいずれも発芽実験に先立

ち7~11°Cの冷暗所で長期間(75~85日間)保存し、これらの保存温度は *S. tropicum* の栄養細胞が消滅していく13°C (Hurburt and Guillard, 1968)を下回るものであった。このことから、*S. tropicum* が栄養細胞のまま堆積物中に生残していたとは考えにくく、*S. tropicum* は洞海湾の海底で休眠し、生存していると推定して実験を進めた。なお、珪藻類の休眠中の細胞は、殻壁が厚く珪酸質化し細胞の形態が栄養細胞と著しく異なる場合に休眠胞子と呼ばれ、形態は栄養細胞とそれほど変わらないものの色調が暗色化した細胞質の凝集体が細胞に存在する場合に休眠細胞と呼ばれ、区別されている(Hargraves and French, 1983; Garrison, 1984)。しかし、*S. tropicum* は休眠中の細胞の形態を観察していないので、それを休眠期細胞と呼称して検討を進めた。

3.2.1. *S. tropicum* 休眠期細胞の発芽温度・光条件

洞海湾の海底堆積物の培養実験では、Table 1に示すように、連続暗条件下では、水温に関わらず *S. tropicum* の発芽は観察されなかった。一方、明暗条件を設定した実験では、23°C以上で発芽が認められた。これらのことは、*S. tropicum* の発芽には *S. costatum* (広義)と同様に光が必要である(板倉, 2000)ことを示す。しかし例えば光が照射されても、温度が11°C以下では発芽は認められなかった。板倉(2000)は温帯海域である広島湾から分離した *S. costatum* (広義)は5~25°Cの培養温度において光照射があれば発芽が可能であることを報告した。また、*S. costatum* (広義)の栄養細胞の培養可能な最低水温は7°C以下(Eppley, 1977)や0°C以下(Hurburt and Guillard, 1968)と報告されており、発芽可能な水温と同様に10°C以下である。これらのことから、熱帯性・亜熱帯性の *S. tropicum* は *S. costatum* (広義)とは異なり、低水温において栄養細胞は生存できず、また発芽もしないことが示された。

今回の実験は *S. tropicum* の発芽に関して約60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光照射を行う場合と行わない場合の2つの光条件化で行ったが、ラフィド藻や渦鞭毛藻などのシストは発芽に光を必要としない(Imai *et al.*, 1996)。一方、珪藻類の *S. costatum* (広義)の休眠細胞の復活には約4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以上の光量子量(Imai *et al.*, 1996)、

Table 1. Temperature and light conditions for germination of resting stage cells of *S. tropicum*

Temperature (°C)	Light	
	24 h Dark	14 h Light* and 10 h Dark
10	—	—
11	—	—
23	—	±
26	—	±

*, 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$

Chaetoceros 属や *Coscinodiscus wailesii* などの休眠期細胞の発芽では1.3~5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光量子量(長井・今井, 1999)が必要とされる。このように珪藻類では発芽に弱い光を必要とすることから、*S. tropicum* の休眠期細胞の場合も発芽には5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度の光が必要と仮定し、次のように検討を行った。2000年に実施された3回のトランセクト調査において、海水中の光量子量は天候や海水の濁りの状況によって異っていたが、曇天や雨天で調査船上の光量子量が51~283 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の場合は、1~5 m以深のほとんどの測定点で5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下の光量子量となっていた。また、薄曇や晴天で調査船上の光量子量が862~2,550 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の場合は、5.0 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下の光量子量が測定されたのは7 mから9 mより深い水深の測定点であった。これらの測定結果から、洞海湾では航路域の水深が最大約13 mにおよぶことを勘案すると、光による *S. tropicum* の休眠解除は、休眠期細胞が海底から巻き上がった時か、水深の浅い海底上で起こっていることが推定される。洞海湾は産業港であり大型船の航行量が多く、また潮汐の影響も推定されることから、海底堆積物の巻き上がりは頻繁に起こっており、*S. tropicum* の休眠期細胞の巻き上がりも容易に起こっていると推定される。

また調査期間中、洞海湾では1月から3月の各月の表面水温は平均値で10.3°Cから11.5°Cで、水深7 m層の最低水温は9.0°Cから11.5°Cであった。これらの水温では *S. tropicum* の栄養細胞は生存が不可能(Hurburt and Guillard, 1968)であり、実際洞海湾の海水中にお

いても栄養細胞は観察されていない (Fig. 3 (b))。以上の観測結果も *S. tropicum* が低水温期には休眠期細胞となって海底堆積物中で越冬していることを支持するものである。珪藻は栄養塩の欠乏など環境が生息に不適な状況になると休眠孢子や休眠細胞を形成することが報告されている (Hargraves and French, 1983; Garrison, 1984)。このような休眠期細胞の形成を誘発する因子の中で、淡水産の珪藻類では生存に不適な低水温期に休眠孢子が形成され越冬していることも報告されており (Hargraves and French, 1983)、低水温が *S. tropicum* の休眠期細胞の形成に関わっていることが推定される。

3.2.2. 海底堆積物中の *S. tropicum* 休眠期細胞の分布

1989年5月に採取した海底堆積物からの *S. tropicum* の発芽実験結果を、Fig. 6 (a) に示す。調査した26地点中、洞海湾外の4地点および湾中央部から湾奥部にわたる4地点においては全く発芽がみられなかったが、湾口側の水路部の1地点では海底堆積物試料の希釈倍率が100倍まで発芽が認められ、この地点では1~10 MPN g^{-1} の発芽可能な休眠期細胞が存在していたことになる。湾口側の2地点では積物試料の希釈倍率が1,000倍まで発芽が認められこれらの地点は10~100 MPN g^{-1} の休眠期細胞、湾中央部付近から湾奥部にわたる10地点では10,000倍までこれらの地点では発芽可能な休眠期細胞が100~1,000 MPN g^{-1} 存在した。湾内全域にわたる5地点では100,000倍希釈まで発芽が認められ、これらの地点では1,000~10,000 MPN g^{-1} の発芽可能な休眠期細胞が存在していた。1996年8月に採取した海底堆積物については、Fig. 6 (b) に示すように、湾口部 Sta. 2 では全く発芽が認められなかったが、湾奥部に近づくにつれ発芽量が増加し、湾奥部の Sta. 7 では13,000 MPN g^{-1} が発芽した。一方、2006年11月に採取した海底堆積物では、Fig. 6 (b) に示すように1996年の場合とは逆に湾口部 Sta. 1 から17,000 MPN g^{-1} と最も多く発芽し、湾口側の Sta. 2 と湾奥側の Sta. 5B において10,000 MPN g^{-1} 以上の発芽が認められた。

調査時の海底堆積物中の休眠期細胞数は休眠期細胞形成数と発芽数との差であることから、季節によって休眠期細胞数が増減し、休眠期細胞が海底堆積物中から

消失することも予想される。しかし、5月、8月および11月と異なった季節に3回行ったいずれの調査においても、発芽可能な休眠期細胞が洞海湾の堆積物中に存在することが示された。とくに5月の場合にはそれ以前の半年間にわたって海水中に栄養細胞がほとんど出現しない (Fig. 3 (a)) ことから、前年に休眠期細胞となったものが越冬していたものと推定される。これらのことは、*S. tropicum* は洞海湾で休眠期細胞を形成し、常時これをシードポピュレーションとして機能させていることを示している。

3.2.3. *S. tropicum* の休眠期細胞と底質との関係

洞海湾で *S. tropicum* の発芽の認められた堆積物の含水率は33.1~64.8%であった。含水率は堆積物の水分の割合を示すと同時に堆積物の組成や状態の目安となり、値が20~40%ならば砂分が半分以上占め、60%以上であればシルト・粘土分が半分以上占めるとされている。このことから、*S. tropicum* は堆積物の物理化学的性質の相違にかかわらず休眠が可能であることが示された。また、Org. C は5.5~109 mg g^{-1} 、Org. N は0.43~3.0 mg g^{-1} と両項目とも広範囲にわたっていた。東京湾奥部の堆積物 (0~5 cm) の Org. C は11.5~35.9 mg g^{-1} 、Org. N は0.87~3.9 mg g^{-1} (小川ら, 1994) で、大阪湾奥部の堆積物 (0~2 cm) の Org. C の最大値は32 mg g^{-1} 、Org. N の最大値は2.8 mg g^{-1} (Mishima *et al.*, 1999) で、これらの値と比較すれば、洞海湾では Org. C は最大値で両湾の約3倍高く、Org. N は同レベルであった。以上のことから、*S. tropicum* の休眠期細胞は著しく有機汚濁の進行した堆積物中にも生存できることが示唆された。

S. tropicum の発芽の認められた試料の AVS も0.04~2.95 mg g^{-1} と、広範囲にわたっていた。過度に富栄養化した海域において貧酸素化が進行すると、海底堆積物中に強い生物毒である硫化水素をはじめとした硫化物が生成される。門谷 (2005) は *Scrippsiella* や *Alexandrium* などの渦鞭毛藻類は堆積物中の AVS 濃度が1.4 mg g^{-1} に達すると発芽能力が失われるが、夏季の洞海湾で採取した海底堆積物で発芽実験を行った結果、*Skeletonema* spp. は AVS 濃度が約1.1 mg g^{-1} においても発芽能力

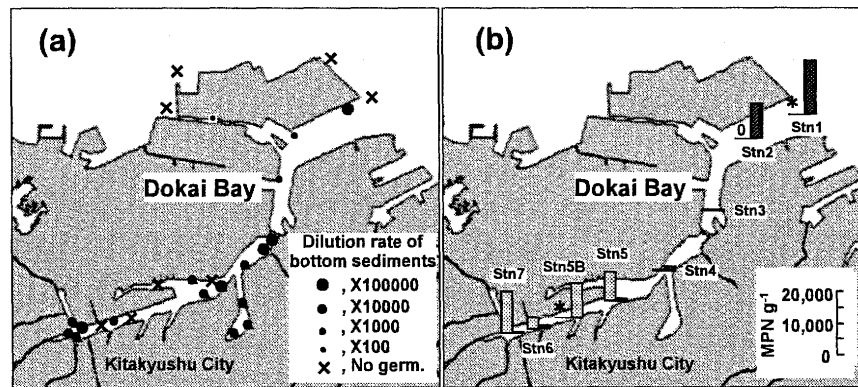


Fig. 6. Geographical distribution of viable resting stage cells of *S. tropicum* in the bottom sediments of Dokai Bay.

(a) Bottom sediments were sampled on 30, 31 May 1989. (b) Bottom sediments were sampled on 22 August 1996 (▣) and on 1 November 2006 (▨). *, No sampling.

が失われなかったことを報告した。1996年8月22日の湾奥部では硫化物濃度が 2.95 mg g^{-1} と高かったにもかかわらず、Fig. 6 (b) に示すように *S. tropicum* には $13,000 \text{ MPN g}^{-1}$ の発芽が認められた。このことは、*S. tropicum* の休眠期細胞は高濃度の硫化物に対しても著しく高い耐性を持つことを示す。以上のことから、*S. tropicum* は堆積物の物理化学的性質の影響を受けにくく、有機汚濁が著しく進行した堆積物中にも休眠でき発芽する特性を持つことがわかった。

4. 結論

熱帯・亜熱帯性種である *S. tropicum* が温帯海域の洞海湾に侵入・定着できたのは、生存に不適な低水温期に休眠期細胞を形成し越冬するためであることが、今回の調査から確認された。このように休眠期細胞は低水温に耐性を示すのみでなく、洞海湾の著しく有機汚濁の進行した海底堆積物中の AVS などの毒性に対しても高い耐性を示した。一方、栄養細胞も高濃度の $\text{NH}_4\text{-N}$ など過度に富栄養化した海水によく適応して赤潮を形成した。以上のことから、*S. tropicum* は低水温期にシードポピュレーションとして休眠期細胞を形成し、栄養細胞との両生活環において環境インパクトに対し高い抵抗性を発揮するという生存戦略をとることにより洞海湾に定着していると考えられた。

謝辞

本研究を進めるにあたり貴重な論議をしていただいた香川大学の多田 邦尚教授、また論議いただいたほか洞海湾の海底堆積物から *S. tropicum* を分離し提供下さった香川大学の一見 和彦准教授に衷心より感謝の意を表します。また、観測データの提供をしてくださった北九州市環境局に深謝いたします。

References

- 安達 六郎 (1980): 4-2 固定液, p. 169, 赤潮マニュアル1 試料の採集・処理・観察法, 安達 六郎, 入江 春彦編, 赤潮研究会分類班, 三重.
- Eppley, R. W. (1977): 2, The growth and culture of diatoms, p. 32. In *The biology of diatoms*, edited by D. Werner, Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- 深尾 剛士, 西島 敏隆, 山口 晴生, 足立 真佐雄 (2007): 赤潮プランクトン 6 種の尿素利用能. 日本プランクトン学会報, 54, 1-8.
- Garrison, D. L. (1984): Chapter 1, Planktonic Diatoms, p. 1-17. In *Marine Plankton Life Cycle Strategies*, edited by K. A. Steidinger and L. M. Walker, CRC Press, Florida.
- Guillard, R. R. L., E. J. Carpenter, and B. E. F. Reimann (1974): *Skeletonema menziesii* sp. nov., a new diatom from the western Atlantic Ocean. *Phycologia*, 13, 131-138.

- Hargraves, P. E., and F. W. French (1983): Chapter 3, Diatom resting spores: significance and strategies, p. 49–68. In *Survival Strategies of the algae*, edited by G. A. Fryxell, Cambridge University Press, London and New York.
- Hasle, G. R. (1973): Morphology and taxonomy of *Skeletonema costatum* (Bacillariophyceae). *Norwegian Journal of Botany*, **20**, 109–137.
- Hulbert, E. M., and R. R. L. Guillard (1968): The relationship of the distribution of the diatom *Skeletonema tropicum* to temperature, *Ecology*, **49**, 337–339.
- 飯間 雅文 (2004): 4-3-5 培養液, p. 801. 地球環境調査計測事典第3巻沿岸域編, 竹内 均監修, フジ・テクノシステム, 東京.
- Imai, I., K. Ito, and M. Anraku (1984): Extinction dilution method for enumeration of dormant cells of red tide organisms in marine sediments. *Bulletin of Plankton Society of Japan*, **31**, 123–124.
- 今井 一郎, 板倉 茂, 伊藤 克彦 (1990): 播磨灘および北部広島湾の海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., S. Itakura, M. Yamaguchi, and T. Honjo (1996): Selective germination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) cysts in bottom sediments under low light condition: A possible mechanism of red tide initiation, p. 197–199. In *Harmful and Toxic Algal Blooms*, edited by T. Yasumoto, Y. Oshima, and Y. Fukuyo, Intergovernmental Oceanographic Commission of UNESCO, Japan.
- 板倉 茂, 今井 一郎, 伊藤 克彦 (1992): 海底泥中から見出された珪藻 *Skeletonema costatum* 休眠細胞の形態と復活, 日本プランクトン学会報, **38**, 135–145.
- 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.
- 環境庁水質保全局 (1988): 3 乾燥減量, 底質調査法の改訂について. 昭和63年環水管127号, p. 1,010.
- 気象庁 (1970): 水温, 9–54. 塩分, p. 168–174. 海洋観測指針, 日本気象協会, 東京.
- Kooistra, W. H. C. F., D. Sarno, S. Balzano, H. Gu, R. A. Andersen, and A. Zingone (2007): Global diversity and biogeography of *Skeletonema* species (Bacillariophyta). *Protist*, doi:10.1016/j.protis.2007.09.004.
- Mishima, Y., A. Hoshika, and T. Tanimoto (1999): Deposition rate of terrestrial and marine organic carbon in the Osaka Bay, Seto Inland Sea, Japan, determined using carbon and nitrogen stable isotope ratios in the sediment. *J. Oceanogr.*, **55**, 1–11.
- 門谷 茂 (2004): 3-9 硫黄化合物, p. 233–236. 地球環境調査計測事典第3巻沿岸域編, 竹内 均監修, フジ・テクノシステム, 東京.
- 門谷 茂 (2005): 無(貧)酸素環境下における植物プランクトン群集の応答. 月刊海洋, **37**, 835–841.
- 長井 敏, 今井 一郎 (1999): 大型珪藻 *Coscinodiscus wailesii* の休眠細胞の形成, 生存および復活に及ぼす培養諸条件の影響. 日本プランクトン学会報, **46**, 143–151.
- 日本規格協会 (1992): 45.4 銅カドミウムカラム還元法, 954–955, 46.3.1 ペルオキシ二硫酸カリウム分解法, p. 960–963. 環境測定1992, JISハンドブック10, 工場排水試験法 JIS K 0102-1986, 日本規格協会, 東京.
- 小川 浩史, 青木 延浩, 近 磯晴, 小倉 紀雄 (1994): 夏季の東京湾における懸濁態および堆積有機物の炭素安定同位体比. 地球化学, **28**, 21–36.
- Sarno, D., W. H. C. F. Kooistra, L. K. Medlin, I. Percopo, and A. Zingone (2005): Diversity in the genus *Skeletonema* (Bacillariophyceae): II. An assessment of the taxonomy of *S. costatum*-like species with the description of four new species. *J. Phycol.*, **41**, 151–176.
- Sarno, D., W. H. C. F. Kooistra, S. Balzano, P. Hargraves, and A. Zingone (2007): Diversity in the genus *Skeletonema* (Bacillariophyceae): III. Phylogenetic position and morphological variability of *Skeletonema costatum* and *Skeletonema grevillei*, with the description of *Skeletonema ardens* sp. nov.. *J. Phycol.*, **43**, 156–170.
- Strickland, J. D. H., and T. R. Parsons (1972): *A practical handbook of seawater analysis*. Fish. Res. Bd. Canada, Bull. 167, Ottawa. 311 pp.
- 多田 邦尚, 一見 和彦, 横田 隼人トニ, 山田 真知子, 門谷 茂 (2004): 洞海湾で鞭毛藻類が大増殖しない理由. 海の研究, **13**, 271–279.
- 多田 邦尚, 一見 和彦, 濱田 建一郎, 上田 直子, 山田 真知子, 門谷 茂 (2007): 洞海湾の河口循環流と赤潮形成. 沿岸海洋研究, **44**, 147–155.
- Ueno, S. (1993): On the occurrence of a tropical marine diatom *Skeletonema tropicum* in coastal waters of Japan, with some morphological remarks. *Bulletin of Plankton Society of Japan*, **39**, 97–106.
- 山田 真知子 (1987): 2・2 高濃度アンモニアの増殖阻害作用, p. 58–60. 植物プランクトンによる沿岸海域の富栄養化判定法に関する研究, 京都大学.
- 山田 真知子, 徳崎 健史 (1993): 9. 洞海湾・響灘, p. 96–106. 水域の窒素:リン比と水産動物, 水産学シリーズ95, 吉田 陽一編, 恒星社厚生閣, 東京.
- 山田 真知子, 梶原 葉子 (2004): 著しく富栄養化の進行した洞海湾の植物プランクトン出現特性. 海の研究, **13**, 281–293.
- 柳 哲雄, 山田 真知子 (2000): 洞海湾で冬季赤潮が発生しない理由. 海の研究, **9**, 125–13.

Survival Strategy of Tropical and Subtropical Marine Diatom *Skeletonema tropicum* in Temperate Coastal Small Bay (Dokai Bay), Japan

Machiko Yamada*, Eri Katsuki*, Mayuko Ootsubo*,
Ken-ichiro Hamada†‡, Naoko Ueda†, and Shigeru Montani‡

Abstract

Vegetative cells of the tropical and subtropical diatom, *Skeletonema tropicum*, were monitored monthly from 1991 to 2006 in the temperate Dokai Bay, Japan. The appearances of these species were observed in the regular seasonal cycle characterized by high abundance from summer to early autumn and disappearance during winter and spring. *S. tropicum* formed resting stage cells to overwinter in the bottom sediment during the low temperature season. In addition, germination was possible after the exposure to the bottom sediment at high acid-volatile sulfide (AVS) content as much as 2.9 mg g⁻¹ in the summer. This result suggested that the resting stage cells could tolerate to the heavy organic pollution of the bottom sediment. Germination and subsequent growth of *S. tropicum* was observed in culture conditions of high temperature and irradiance. The vegetative cells in the bay adapted to the extremely high NH₄-N concentration (711 μM), a level at which other phytoplankton show inhibited growth, and *S. tropicum* was responsible for the heavy red tides in the bay. Such survival strategies of *S. tropicum* enable this species to establish in hyper eutrophic Dokai Bay, which is located at a temperate water, although *S. tropicum* had been thought not able to grow at the temperate waters.

Key words: *Skeletonema tropicum*, survival strategy, temperate coastal water, over wintering resting stage cell, tolerance to pollution

(Corresponding author's e-mail address: m-yamada@fwu.ac.jp)

(Received 28 May 2008; accepted 8 November 2008)

(Copyright by the Oceanographic Society of Japan, 2009)

* Department of Environmental Science, Fukuoka Women's University, Kasumigaoka1-1-1 Higashi-ku, Fukuoka 813-8529, Japan

† Faculty of Environmental Engineering, The University of Kitakyushu, Hibikino 1-1, Wakamatsu-ku, Kitakyushu 808-0135, Japan

‡ Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University, N10W5, Kita-ku, Sapporo 060-0810, Japan