

有害赤潮ラフィド藻 CHATTONELLA の
シストに関する生理生態的研究

1989年

今 井 一 郎

正 誤 表

表紙・背表紙に誤りがありましたので訂正します。

(誤) CHATTONELLA

(正) Chattonella

有害赤潮ラフィド藻 Chattonella の

シストに関する生理生態的研究

今 井 一 郎

1 9 8 9 年

目 次

第1章 序 論	1
第2章 シストの生理生態	6
第1節 シスト検出のための方法論の検討	7
第1項 シストの存在についての検討	7
第2項 シストの計数法の検討	13
第2節 <u>Chattonella</u> の年間の生活様式	22
第3節 シストの二次休眠	34
第3章 シストの形態	40
第1節 海底泥中のシストについて	41
第2節 培養によって形成させたシストについて	55
第4章 周防灘における <u>Chattonella</u> の発生状況と シストの挙動	64
第1節 シストの分布	65
第2節 夏季の現場調査	77
第3節 周防灘における <u>Chattonella</u> 赤潮の 発生機構に関する考察	91
第5章 瀬戸内海の諸水域および 鹿児島湾におけるシストの分布	102

第1節	大阪湾	103
第2節	播磨灘	106
第3節	燧・備後灘	112
第4節	広島湾北部	116
第5節	鹿児島湾	119
第6章	総括	125
謝辞		132
文献		133

第 1 章 序 論

赤潮は、水中の微小生物、とりわけ植物プランクトンの異常増殖による着色現象として知られている。我が国沿岸海域では 1960 年代以降、富栄養化の進行と共に赤潮が頻発し、深刻な漁業被害を伴う場合が多くなってきている。赤潮生物による漁業被害を類別すると、有毒プランクトンによる魚介類の毒化と、有害プランクトンによる魚介類の斃死に大別できる。前者は、食物連鎖を通じてプランクトンの毒が魚介類に蓄積されて、これを食べた人間が中毒する（時には死に至る）というもので、麻痺性貝毒、下痢性貝毒、シガテラ毒等が知られている。後者は、発生した赤潮プランクトンによって、天然、蓄養、あるいは養殖中の魚介類が死亡させられるものである。とくに養殖魚類の大量斃死は、被害が数十億円以上の莫大な額に達することもあり、後述のように大きな社会問題となっている。

このような漁業被害を与える赤潮生物の中でも、ラフィド藻類に属する Chattonella antiqua (Hada) Ono と Chattonella marina (Subrahmanyam) Hara et Chihara は、大規模な赤潮を形成し、ハマチやタイを中心とする養殖魚類の大量斃死を引き起こすことで有名であり、それによる被害額は他の赤潮の被害に比べて群を抜いて大きい。Chattonella による赤潮は、1969 年 8-9 月に広島湾で初めて発生し (高山, 1972)、多くの天然魚類と約 3 万尾の養殖ハマチの斃死をもたらした (木村ら, 1973)、翌年にも同湾で発生し、養殖ハマチ約 30 万尾中 25 万尾を斃死させた。1972 年 7-8 月には C. antiqua による赤潮が播磨灘で発生し、1,400 万尾もの養殖ハマチの斃死を引き起こした (水産庁, 1973; 岡市, 1983)。これを契機とし、赤潮被害に対する訴訟が養殖業者らによって起こされてあらたな社会問題となった。Chattonella 赤潮は、日本海側では舞鶴湾以西 (田中ら, 1977)、太平洋側では三河湾以西の西日本で発生が確認されている (Ono & Takano, 1980)。とくに瀬戸内海においては、どこかの水域で毎年のように発生し、漁業被害を与え続けている。

Chattonella 属は、ラフィド藻綱 (Raphidophyceae)、ラフィドモナス目 (Raphidomonadales)、バキュオラリア科 (Vacuolariaceae) の1属である。細胞の形態は球形あるいは紡錘形が基本であり、細胞壁を持たないので形態の変化が著しく、僅かの刺激でも細胞は破壊され易い。細胞の前端部に2本の鞭毛があり、1本は遊泳鞭毛として前方に伸び、他の1本は曳航鞭毛として後方へと伸びている。葉緑体は楕円形ないし円盤形で多数存在し、細胞中央から放射状に並ぶ。無性生殖は、原則として縦二分裂により行われる (高山, 1972)。有性生殖については、C. marina (= Hornellia marina) で接合子が形成されたという観察 (Subrahmanyam, 1954) があるものの明らかでない。シストの存在については、著者が発見するまでは全く不明であった。

広島湾で初めて Chattonella の存在が確認された時には、ミドリムシの新種新属として Hemientreptia antiqua と命名された (Hada, 1974) が、その後分類学的検討が重ねられ、Hornellia 属と呼ばれた一時期を経て現在は Chattonella 属と称されている。この間の経緯については高山 (1983) の報告に詳しい。現在 Chattonella 属のなかで種名が付けられているのは C. antiqua、C. marina、および C. subsalsa Biecheler の3種である。他に "球形 Chattonella" を含めて、種名の確定されていないタイプのものが3つあるとされている (原・千原, 1987)。これらの中で、我が国における最重要種の C. antiqua と C. marina は、内部形態や外部形態を電子顕微鏡で観察しても明瞭な相違点が認められず (高山, 1980; 原・千原, 1982, 1987)、現時点では培養細胞の細胞長の違いと後端部の細長い尾部の有無を基準として同定が行われているのが実状である。しかし、前述のように Chattonella は細胞の形態変化が著しいため、現実には両種の識別は非常に困難な場合が多い (原・千原, 1982, 1987)。最近、モノクローナル抗体によって両種の種間および種内を識別する試みがなされ、4つのタイプが認識されている (Hiroishiら, 1988; Uchidaら, 1989)。しかし、それらが真に別種であるかどうかは今後の研究に待たれている。

赤潮による漁業被害を軽減・防止する目的で、これまで種々の対策が講じられてきた(村上, 1980; 代田, 1980; 岡市, 1980)。これらの対策を大別すると、赤潮の発生に関連する水質や底質の改善や、被害からの緊急避難を目的とする間接的対策と、赤潮生物の駆除を目的とする直接的対策に分けられる(代田, 1980)。間接的対策としては、①水質汚濁防止法、海洋汚染防止法、農薬取締法等の法的規制、②海底耕耘、海底被覆、ヘドロ除去等による底質改善、③大型海藻や珪藻類等を用いて栄養塩類を除去させる水質改善、④モイストペレット(養殖餌料)の開発による自家汚染防止、⑤赤潮発生水域からの緊急避難としての生簀の移動、等が挙げられる。直接的対策としては、化学薬品による赤潮生物の殺滅、超音波法、海面回収法、薬剤を用いた凝集・沈降・回収法、粘土吸着法、等がこれまで試験された。しかしながら、これらの方法は除去後の水質対策が困難であるため、実用化されているものは殆ど無いのが現状である。このような状況の中で、上述のような対策とは別に、赤潮の発生を事前に予知・予察することの重要性が指摘されている(吉田, 1980; 小野ら, 1980; 安楽, 1985a, b)。予知の目標としては、その年に赤潮が発生するのか否か、発生する場合には発生種、発生の時期と期間、発生水域と規模などが挙げられよう。赤潮の発生を予知しかつ精度を高めるためには、その発生機構の解明が必要である。

Chattonella 赤潮の発生機構に関しては、主に栄養細胞を対象として、増殖生理や増殖と物理・化学的環境との関係に力点をおいた研究が多く行われてきた(岩崎, 1971, 1973, 1980; Iwasaki, 1979; 池田, 1971; 藤沢・三宅, 1982, 1983; Watanabeら, 1983; Nakamura & Watanabe, 1983a, b, c; 古賀, 1984; 矢持, 1984a, b; 柳, 1984, 1987; 古城ら, 1985; Nakamura, 1985a, b; 西島, 1985; Nishijima & Hata, 1986; 門谷・岡市, 1987; Honjo, 1987; Nakamuraら, 1988)。また現場海域での日周鉛直移動性(池田ら, 1971; 浜本ら, 1979)、浮上性と走光性(吉田・沼田, 1983)、および栄養細胞の集積機構等についても調べられている(吉田・沼田, 1982a, b, c; Nakaya & Yoshida, 1984)。しかしながら、Chattonella の生

活史的観点に立脚した研究は、その重要性が指摘されている（岡市ら、1983）にもかかわらず、皆無であった。これまで多くの研究者によって、現場海底泥からのシストの確認や、室内培養によるシスト形成が試みられてきたが、成功に至っていない。それゆえ、シストの確認および、赤潮発生における seed population としてのシストの生態的役割を明らかにすることは、前述の発生機構の解明や被害防除および発生予知を行うために、緊急を要する重要研究課題であった。

近年、赤潮や貝毒の原因となる渦鞭毛藻類に関しては、生活史の一時期を底生性のシストとして過していることが、かなりの種で知られるようになってきた（Wall, 1975; Dale, 1983; Walker, 1984; 左子・石田, 1986; 福代, 1987）。また、これらのシストは赤潮の発生機構を考えるうえで、重要な生態的意義をもつと言われている（Wall, 1971, 1975; 飯塚・入江, 1972; Steidinger, 1975; 福代, 1982; Dale, 1983; Sakoら, 1984, 1985; 飯塚, 1986; 中原, 1986; 中原・左子, 1987）。赤潮発生において果たすシストの役割としては、①栄養細胞では生存不可能な環境条件の期間を耐久性を持って乗り切る（例えば越冬）、②海底で越冬することによって同一海域内に保持され、翌年の赤潮の発生源となる、③破損や捕食に対する抵抗力を持つため、種の分布が拡大できる、④一般的に休眠期間を持つために、発芽の時期がうまく制御されている、⑤有性生殖の結果形成されたシストの場合は遺伝子の組み換えが行われるため、種の遺伝的多様性を維持できる、等が挙げられよう（Wall, 1971, 1975）。

ところで最近になって、冷暗所で保存した播磨灘や紀伊水道沿岸域の海底泥を培養液中で培養すると、Chattonella の栄養細胞が出現してくることが示された（秋月ら, 1981）。このことは、Chattonella が海底泥中でシスト等の耐久細胞の状態で存在し、越冬している可能性を示唆している。Chattonella の耐久細胞においても、上述の渦鞭毛藻類のシストの場合と類似した機能を果たしているとするならば、それは赤潮の発生機構の中で大変重要な役割を演じていることになる。

以上のような背景から、本研究では、Chattonella の生活史の中でこれ

まで全く不明であったシストについてその存在を証明し、生理生態を調べて、赤潮発生機構において果たすシストの役割を解明することを目的とした。

本研究においては、第2章でまずシストの発芽を検出するための方法論の検討を行い、Chattonella シストの発芽、休眠、および成熟（発芽能力の獲得）等の生理生態を調べた。次に第3章において、シストの形態と存在状態を明らかにした。第4章では、瀬戸内海西部周防灘を対象水域として現場調査を行い、シストの挙動と環境条件、および栄養細胞の出現との関係を検討した。第5章においては、瀬戸内海の諸水域ならびに鹿児島湾におけるシストの地理的分布を調査すると共に、赤潮の発生場所との関係を主に論じた。

第2章 シストの生理生態

赤潮生物を含めた植物プランクトンの多くは、生息する水域において著しい季節的消長を示し、一時的に水中から全く姿を消してしまうことも珍しくない。このような植物プランクトン種は、水中での浮遊生活を行ってない時期には、シスト、アキネート、あるいは休眠孢子等の耐久細胞の状態で、底泥中に生存していることが多い。一般的に耐久細胞は、環境変化に対する強い抵抗力を持つので、栄養細胞の状態での生理的耐性範囲を越えるような環境条件下でも生存できる。従って、耐久細胞を形成することは、生息場所における種の継続的維持発展の面で大変有利である。耐久細胞は、後に水中に出現する栄養細胞の seed population として機能するので、その生理生態を明らかにすることは、栄養細胞個体群の初期発生を知るうえで大変重要であるといえよう。

Chattonella は夏季に赤潮を形成する生物である。それゆえ、これまでの調査研究の大部分は夏季に集中的に実施される傾向があり、その他の季節の生活様式や、シストの生理生態に関する研究は皆無であった。

本章においては、耐久細胞であるシストの生理生態を明らかにすることを目的とした。第1節ではシストを検出し、計数するための方法論の検討を行った。第2節においては、その方法を用いてシストの休眠と発芽能力の季節性を調べ、海底泥中での耐久細胞期を含めた Chattonella の年間の生活様式を明らかにした。第3節ではシストの二次休眠の能力を検討し、赤潮発生との関連について論じた。

本章の研究を開始した時点においては、Chattonella の耐久細胞がシストの形態であることは確認されていなかったが、その後、その耐久細胞がパルメラ期やアメーバ状または生理的に耐性の強い栄養細胞等ではなく、通常の栄養細胞とは形態、大きさ、膜の厚さ等が著しく異なるシストであることが判明した。したがって、本研究では用語の統一を図るため、シストの語を用いることにした。

第1節 シスト検出のための方法論の検討

第1項 シストの存在についての検討

ラフィド藻類の仲間には生活史の不明なものが多く (Heywood, 1980)、Chattonella (C. antiqua と C. marina) においても未解明の部分が多く残されていた。Subrahmanyam (1954) は、Hornellia marina (原・千原 (1982) によれば C. marina と同種) が接合過程を経て球形の接合子 (zygote) を形成したと報告しているが、形成されたものについて継続的な観察を行っていないので真偽は定かでない、またそれがシストになるのかについては全く明らかでない。

秋月ら (1981) は、海底泥を培養液中で培養することによって Chattonella の栄養細胞の出現を認めているが、その起源がシストであるのか耐久性栄養細胞であるのかを確認していない。本項では海底泥中に越冬シストが存在するとの仮定のもとに、海底泥試料を用いて、発芽温度、発芽に要する日数、シストが多く存在する粒子径画分等を調べた。

材料および方法

1983年4月下旬に南西海区水産研究所調査船しらふじ丸により、Fig. 1に示す播磨灘の定点 St. H-12 においてKK式柱状採泥器 (木俣ら, 1960a) を用いて海底泥試料を採集した。この定点は、Chattonella のシストが高密度に存在した水域に位置している (今井ら, 1984)。採泥試料の表面から3cm深までをプラスチック容器に採取し、それを海面下2mから汲み上げている海水 (水温 12-15°C) で連続的に保冷して実験室にもち帰った。その後海底泥試料は 11.5°C に温度を設定した低温恒温庫に暗所保存した。

一連の実験には栄養強化した培養液を用いず、研究所付近の海水をワットマンGF/Cガラス繊維濾紙によって濾過後、暗所に2ヶ月以上保存し、

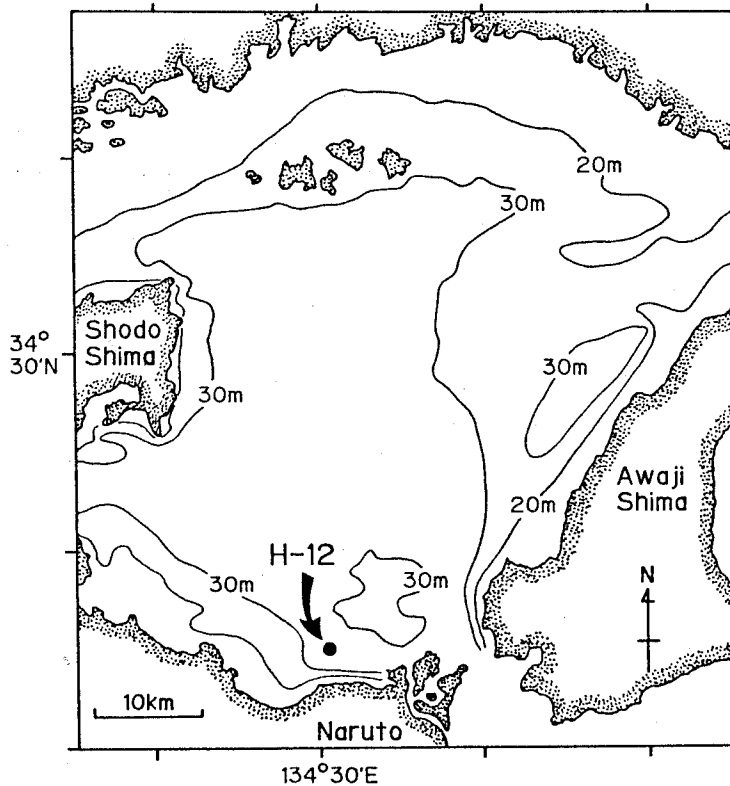


Fig.1. Location of St.H-12 in Harima-Nada, eastern Seto Inland Sea. Sampling was made in April, 1983. Collected sediments were used for sediment incubation experiments.

オートクレーブで滅菌したものを用いた。これは、*Chattonella* の栄養細胞が分裂増殖するのを抑制すると同時に、他の珪藻類や鞭毛藻類の増殖を抑えるためである。一定の条件下で培養後、出現した栄養細胞を計数することによって、試料中の発芽可能なシストのおおよその数を推定した。*C. antiqua* の小型の細胞と *C. marina* の大型の細胞はサイズが近似し、形態的にも識別困難な場合が多いので、両種をあわせて *Chattonella* として計数した。

1. シストの存在する底泥の粒子径画分

湿重量 1.5g の底泥試料を上記濾過海水中に懸濁し、超音波処理後、目合い 100、75、58、30 および 20 μ m のナイロン網地をはった篩を用いて、順次濾過海水で洗浄濾別した。各篩上の試料を共栓試験管にとり、濾過海水で 5ml に定容した。培養は温度 22°C、照度約 3,500lx、明暗周期 14h

L-10hD の条件で行い、5日後に出現した全部の栄養細胞を計数した。以下の実験においても、試料の基本的な処理方法や培養条件は同様である。

2. シスト発芽の経日変化

粒子径画分 20-100 μm の底泥を3本の共栓試験管に分注し（処理前の泥の湿重量に換算して 0.4g ずつ）、濾過海水で 6ml に定容して培養した。培養は9日間行い、毎日1回各々の試験管の表層から海水 4ml ずつを採り、出現した栄養細胞を計数した。検鏡後、同温度の濾過海水をその都度補充した。

3. シストの発芽に及ぼす温度の影響

粒子径画分 30-75 μm の底泥を共栓試験管に分注し（処理前の泥の湿重量に換算して 1g ずつ）、濾過海水で 10ml に定容した。実験温度は、15、18、20、22 および 25 $^{\circ}\text{C}$ の5段階とし、各温度について2本ずつで培養を行った。7日後に各々の試験管の表層から 4ml を採り出し、その中の栄養細胞を計数した。

結果および考察

Fig. 2 に示すように、発芽した栄養細胞は海底泥の 100 μm 以下の画分から出現した。とくに 30-58 μm の画分で全体の約 70% を占め、58-75 μm

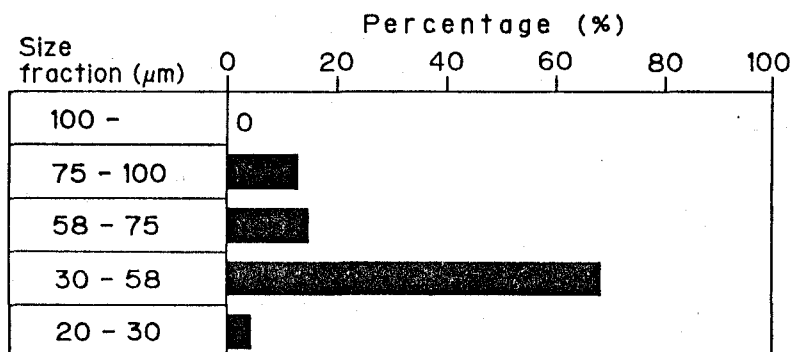


Fig.2. Percentage appearance of vegetative cells of Chattonella from different size fractions of sediments.

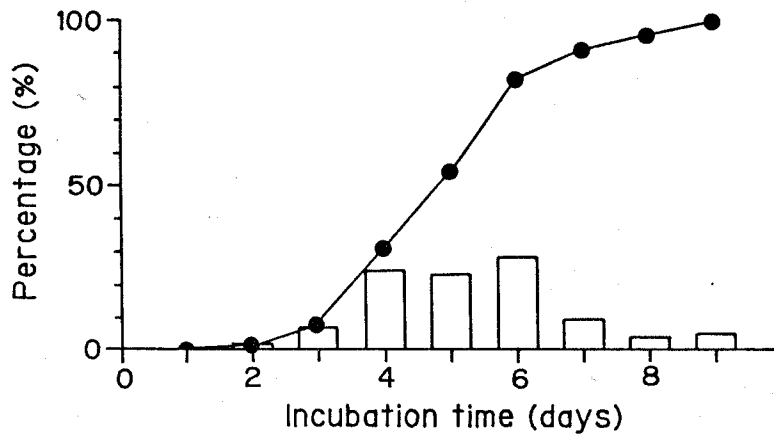


Fig.3. Daily appearance of vegetative cells of *Chattonella* from the sediments.

Closed circles: cumulative percentage

Histograms: daily percentage

の画分も合わせると 80% 以上になり、シストは海底泥中のこのような粒子径画分に多く存在していることがわかった。

9日までに発芽して出現した栄養細胞の総数に対する毎日の出現数の割合、およびその累積頻度をみると Fig. 3 のようになった。培養開始後2日目よりシストから発芽した栄養細胞が認められるが、その数は4-6日目の3日間で最も多く、合計で全体の74%を占めた。

底泥試料中のシストの発芽に与える温度の影響を Fig. 4 に示した。実験を行った 15-25°C の全ての温度条件下で、発芽した栄養細胞の出現が確認された。温度 15 と 18°C においてはその数は少なかったが、20°C から増大し、22°C で最大値を示し、25°C では再度減少した。この結果は、*Chattonella* のシストの発芽好適温度が、20-22°C 付近にあることを示している。

貝毒や赤潮の原因となる渦鞭毛藻類においては、シストの発芽に温度が重要な影響を及ぼすことが知られている (Dale, 1983; Sakoら, 1985)。*Chattonella* のシストにおいても、その発芽に温度が大きく影響していることが明らかとなった。*Chattonella* 赤潮の頻発する瀬戸内海東部の播磨灘においては、水深 30m 以上の場所でも7月には底層の水温が 20°C 以上に達する (秋月ら, 1982)。従って、夏季の水温上昇期には底泥表面の温度が発芽の最適範囲に達するので、そこにあるシストはこの時期に発芽

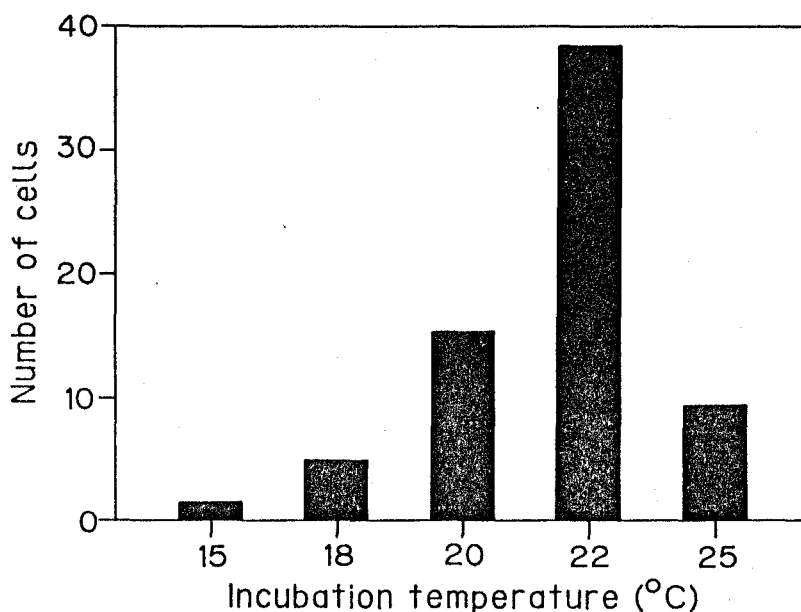


Fig.4. Effects of temperature on the germination of cysts of *Chattonella* in the sediments. Number of vegetative cells appeared after sediment incubation for 7 days is shown on the ordinate.

し、栄養細胞として表層水中に出現すると考えられる。

大部分の渦鞭毛藻類のシストの発芽には、これまで光は殆ど影響を与えないとされてきた (Anderson & Wall, 1978; 福代, 1982; Dale, 1983)。しかしごく最近になって、Binder & Anderson (1986) は、*Scrippsiella trochoidea* のシストの発芽には光が必須であるが、通常培養に用いられる強さの光で1秒以内の照射があればシストの発芽が誘起されることを明らかにした。さらに Andersonら (1987) は、5種類の渦鞭毛藻類のシストを用いて発芽に与える光の影響を詳しく調べた結果、光条件下の方が暗黒下に置いた場合よりもよく発芽する傾向のあることを確認した。また、この暗条件下でのシストの発芽も、実験開始時に少量の光が短時間照射されているため、真に暗黒下でシストが発芽できるのか否かは明確でないと述べられている。

ところで *Chattonella* においても、播磨灘や周防灘の海底泥試料を前述の濾過海水中に懸濁して、温度 22°C の暗黒条件下で培養したところ、栄養細胞の出現が確認された。しかしこの場合も、培養開始前の海底泥試料の処理時に若干の光が当たっているため、厳密な意味でシストの発芽に

対する光の要求について論ずることはできない。もし Chattonella のシストが S. trochoidea のシストと同様な性質を持っていれば、シストの発芽に与える光の影響を評価することは現時点では困難である。しかしながら、Chattonella のシストの発芽に光が必要であるにしても、継続的に強い光を要求するわけではないと思われる。

第2項 シストの計数法の検討

前項において、Chattonella のシストの発芽温度、発芽に要する日数、および海底泥の中でシストが多く存在する粒子径画分等について検討し、シストの研究に必要な基礎的な実験条件がある程度把握できた。

本項では、海底泥中に存在するシストの数をより正確に評価するために、計数法の改良を検討した。すなわち、水や土壌、あるいは海底泥中に生息している細菌や原生動物等の計数に通常用いられている終点希釈法（最確数法、またはMPN法と呼ばれる）(Singh, 1946; 木俣ら, 1960b; Lighthart, 1969; Ishida & Kadota, 1979; Yamamotoら, 1984) の応用を試みた。

材料および方法

実験に用いた海底泥試料は、第1項で述べた播磨灘の定点 St. H-12 から採集したものである。終点希釈法によって、シストの数を計数するための操作手順を Fig. 5 に示した。湿重量 1g の試料を濾過海水中に懸濁し、超音波処理（トミー精工UR-20P使用）後、目合い 100 および 20 μ m のナイロン網地の篩を用いて 20-100 μ m の粒子径画分を得た。この画分を濾過海水あるいは栄養強化した改変SWM-3培養液（もとの組成から土壌抽出液、肝臓エキス、および珪酸塩を除いたもの）(Chenら, 1969; 伊藤・今井, 1987) に、処理前の湿重量に換算して 0.1g / ml の濃度になるように定容し、これを 10⁰ 懸濁液とした。それぞれの培養液で順次 10 倍希釈して 10⁻¹ と 10⁻² の希釈段階の懸濁液を調製し、10⁰、10⁻¹、および 10⁻² の懸濁液から 1ml ずつ 5 本の試験管に接種した。各試験管にそれぞれ同一の培養液を 1ml ずつ加えて総量を 2ml にした後、温度 22°C、照度 3,500lx、14hL-10hD 明暗周期の条件下で培養を行った。4日毎に各試験管中の栄養細胞の出現の有無を顕微鏡で調べ、出現したものは陽性、しなかったものを陰性として記録した。各希釈段階（10⁰、10⁻¹、10⁻²）に

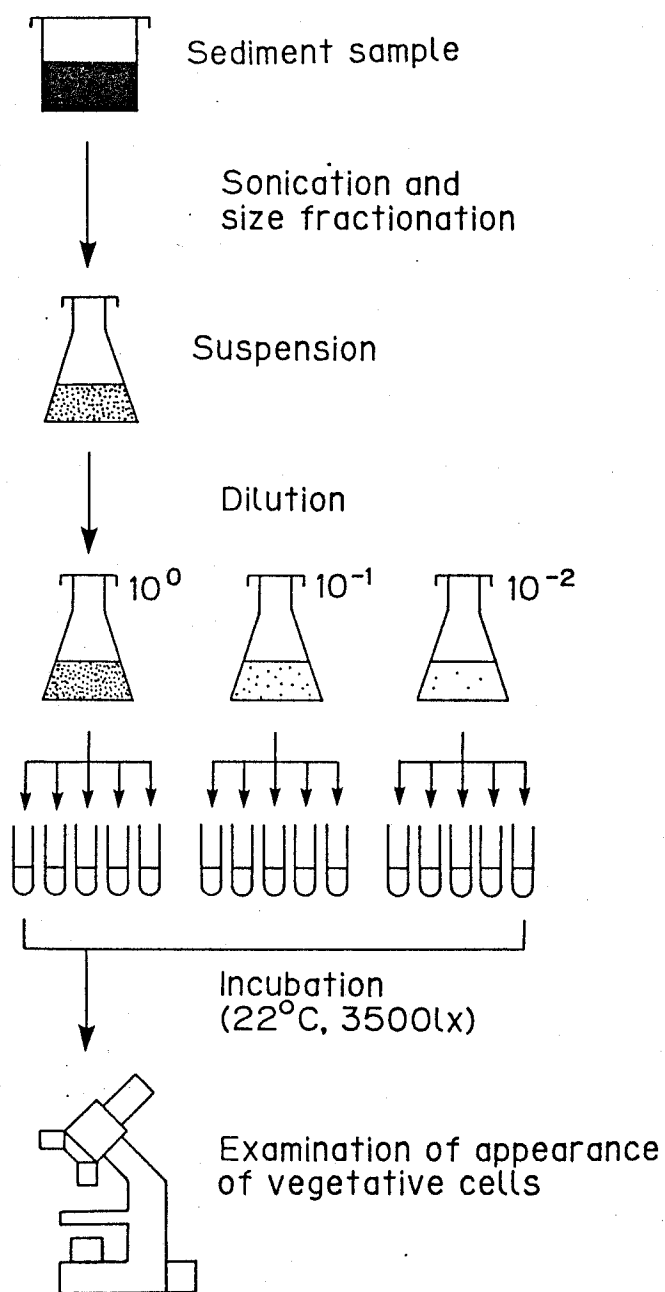


Fig.5. Process of the extinction dilution method for enumeration of cysts of *Chattonella* in sediment samples.

おける陽性数の組み合わせから、最確数表（例えば Throndsen, 1978; 伊藤・今井, 1987）を参照し、海底泥 1g 中のシストの最確数（MPN）を算出した。ここで用いた濾過海水も第1項で述べたものと同じである。

海底泥の培養により、シストの発芽の結果出現する栄養細胞の観察には、1984年4月に播磨灘で採集した試料も用いた。

シストの発芽に与える温度の影響を終点希釈法によって再度検討したが、その実験には Fig. 6 に示した燧灘の定点 St. HB-11 から 1986 年 5 月に採取した海底泥（表面から 1cm 深まで）を用いた。また、海底泥を 11°C の低温暗条件下に長期間保存した場合のシストの発芽能力維持を調べるための試料は、Fig. 6 の周防灘の 2 点 (Sts. J と N、3cm 深まで) から 1984 年 4 月に得たものである。

結 果

1. 観察された *Chattonella* の栄養細胞について

終点希釈法は海底泥の培養を基本とするため、Fig. 7 に示したように 5 タイプの *Chattonella* の栄養細胞を観察することができた。最も頻繁に観察されたのは *C. marina* (Fig. 7, B) であり、次いで *C. antiqua* (Fig. 7, A) であった。また、時々上記 2 種の中間の形態をしたもの (Fig. 7, C) が認められた。このタイプの細胞は、*C. antiqua* のやや小型程度の長さで、後端部の細長い尾部を欠いており、形態的には *C. marina* が長くなったような印象を与える。この他に、長径約 30 μ m 以下の小型の細胞が希に観察された (Fig. 7, D)。これは形態的には *C. marina* と類似していたが、細胞は小さく、色調も薄かった。これら 4 つのタイプの他に、極めて希な形態のものが観察された (Fig. 7, E)。細胞の大きさは *C. antiqua* と同様であるが、葉緑体は細胞の中心線から放射状に並び、その数は *C. antiqua* や *C. marina* に比べて著しく少ないのが特徴である。なお球形 *Chattonella* (原・千原, 1987) は観察されなかった。

2. 終点希釈法による海底泥中のシストの計数

Table 1 に、1983 年 4 月に播磨灘の定点 St. H-12 で採集した海底泥中に存在する *Chattonella* のシストを、終点希釈法で計数した結果を示す。培養開始後 4 日と 8 日目の計数値は、改変 S WM-3 培養液および滅菌濾

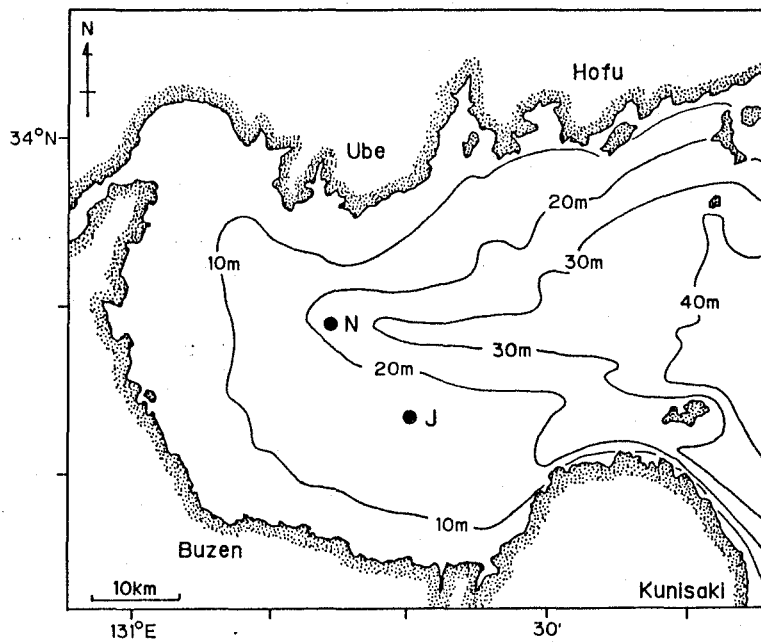
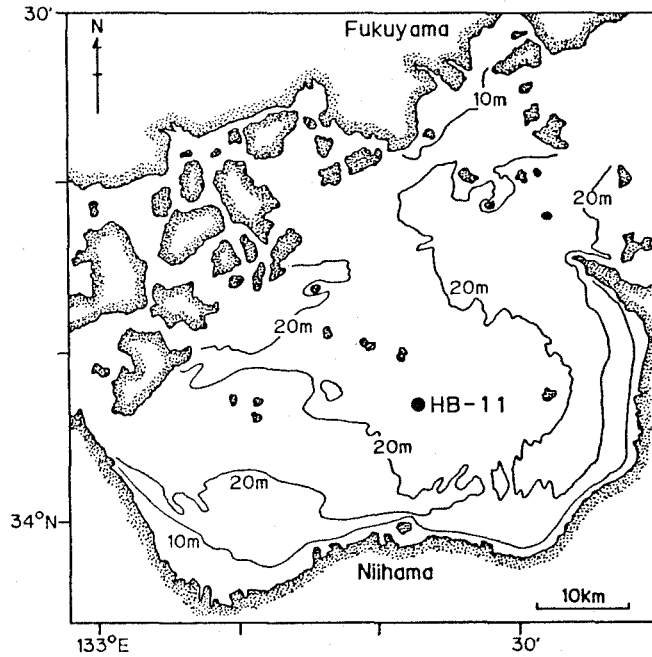


Fig.6. Locations of the stations for collecting sediments. Upper: St.HB-11 in Hiuchi-Nada, central part of the Seto Inland Sea. Sediments were collected in May, 1986. Lower: Sts.J and N in Suo-Nada, western Seto Inland Sea. Sediments were collected in April, 1984.

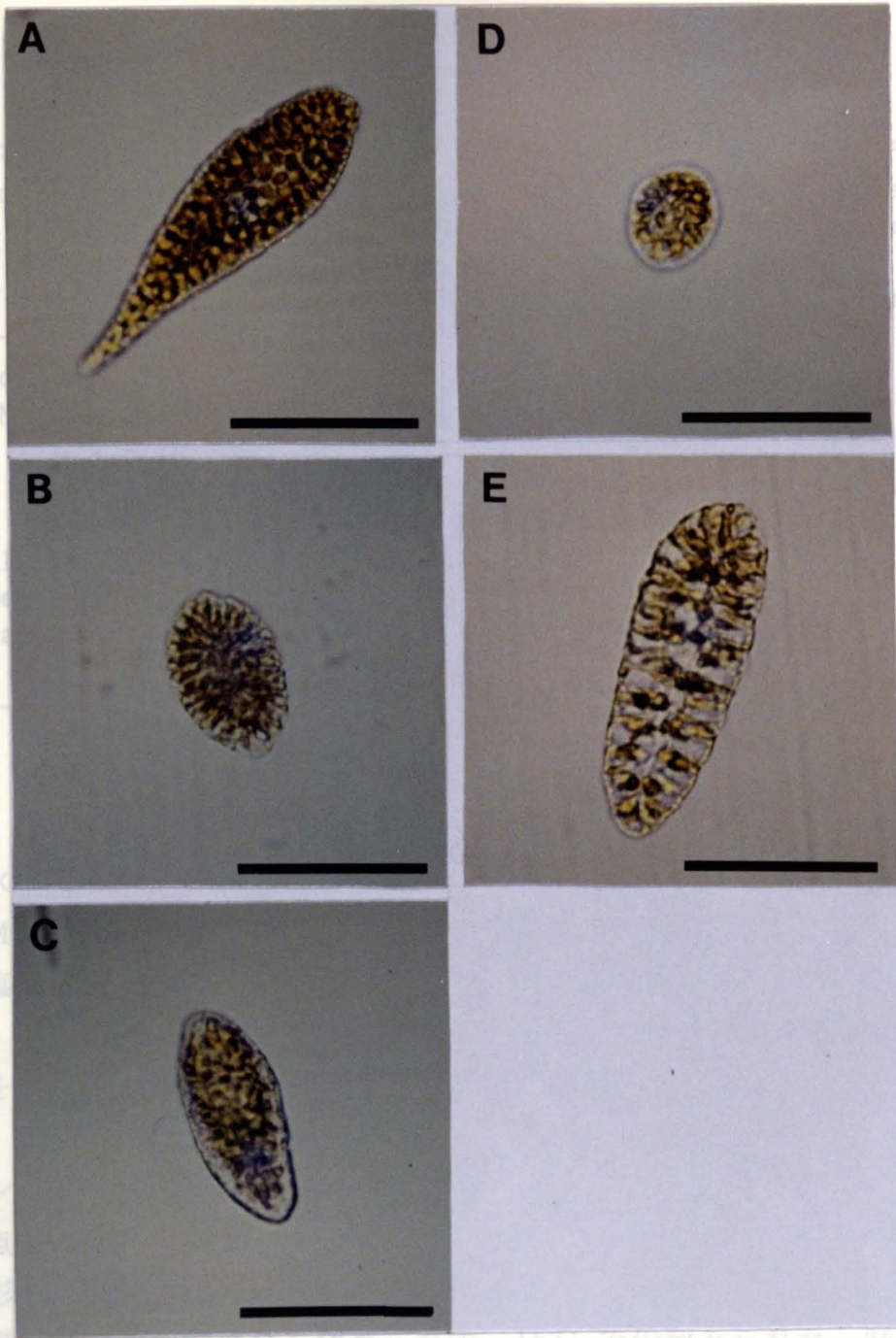


Fig.7. Microphotographs of 5 types of Chattonella appeared after the sediment incubation by the extinction dilution method. (Scale bar=50 μ m)

A: Chattonella antiqua (Hada) Ono

B: Chattonella marina (Subrahmanyam) Hara et Chihara

C: Intermediate type between C. antiqua and C. marina

D: Type mini

E: New type

Table 1. Enumeration of cysts of *Chattonella* in the sediment sample collected at St.H-12 in Harima-Nada, in April, 1983.

Medium	Incubation period (days)	Number of positive tubes in each dilution			MPN of cysts germinated (g sediment ⁻¹)
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	
Modified SWM-3	4	5	3	0	79
	8	5	4	0	130
	12	2	2	0	(9.3) ^{a)}
	16	2	2	0	(9.3) ^{a)}
Filtered and sterilized seawater	4	5	3	0	79
	8	5	3	0	79
	12	5	3	1	110
	16	5	4	0	130

^{a)} Survival might be inhibited by diatoms.

過海水共に類似した計数值を与えた。しかし 12 日目以降になると、改変 SWM-3 培養液を用いたシリーズの計数值が格段に低くなった。これは、珪酸塩を除いていたにもかかわらず、多くの試験管の中で珪藻類が大量増殖し、*Chattonella* の生残を阻害した結果と考えられる。一方、滅菌濾過海水を用いたシリーズでは安定した計数值が得られた。

3. シストの発芽に与える温度の影響

終点希釈法によって、燧灘から得た海底泥中のシストの発芽に及ぼす温度の影響を調べ、その結果を Fig. 8 に示した。温度 10°C では発芽の結果出現する栄養細胞は全く認められず、15°C で少数みられた。20°C で発芽が活発になり、22°C と 25°C で最大を示し、30°C で大きく減少した。

4. 低温保存したシストの発芽能力の維持期間

周防灘の 2 点から採集した海底泥試料を、11°C の冷暗所に 4 および 15

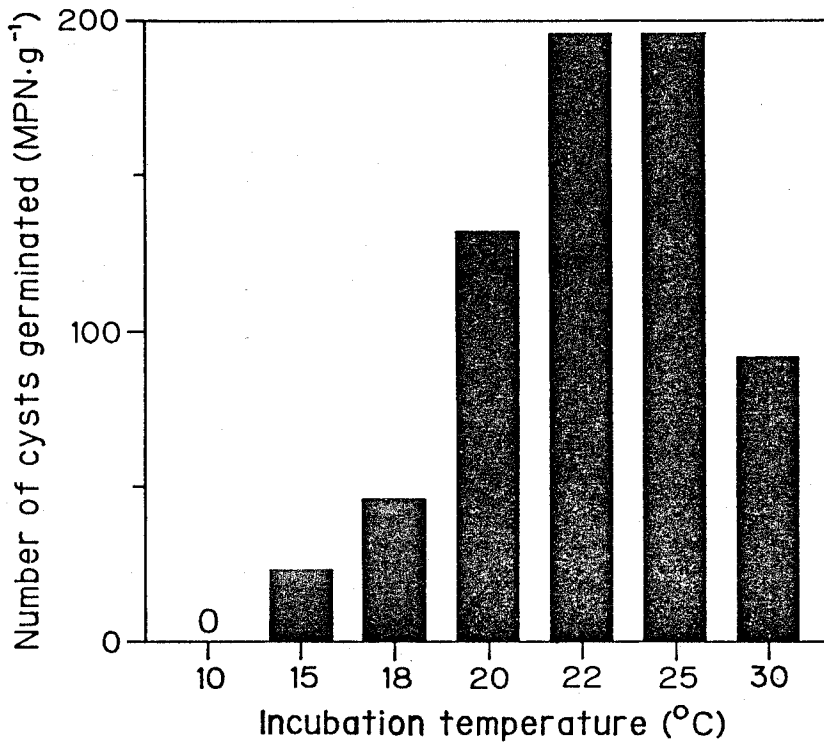


Fig.8. Effects of temperature on the germination of cysts of Chattonella in the sediments collected from St.HB-11 in Hiuchi-Nada, in May, 1986. Extinction dilution method was employed for enumerating the number of cysts germinated at each temperature.

ケ月間置いた場合の、発芽できる Chattonella のシストの計数結果を Table 2 に示す。計数値は、4 と 15ヶ月目の間で顕著な差は認められなかった。この結果は、春に採取した海底泥中のシストが、上記条件下で少なくとも 15ヶ月以上発芽能力を維持できることを示している。

考 察

終点希釈法は海底泥試料の培養を基本としているので、計数の対象となるのは発芽能力を持つシストとということになる。それゆえ、シストの総数は計数できない。しかしながらこの方法は、栄養細胞の形態が既知であれば、海底泥中の耐久細胞の形態が不明であっても、その存在量を推定で

Table 2. Effects of storage period on the germinability of cysts of *Chattonella* in sediment samples collected at Sts. J and N in Suo-Nada, in April, 1984. Sediments were stored at 11°C in darkness, and the number of germinable cysts were enumerated by the extinction dilution method.

Sample	Storage period (months)	Number of positive tubes in each dilution			MPN of cysts germinated (g sediment ⁻¹)
		10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	
St. J	4	5	4	0	130
	15	5	3	0	79
St. N	4	5	3	1	110
	15	5	3	1	110

きるといふ極めて大きな利点を持つ。現在この方法を用いて、海底泥中の *Heterosigma akashiwo* や *Skeletonema costatum* の耐久細胞の計数が行われている (Imaira, 1984; Yamochi & Joh, 1986)。

観察された *Chattonella* の栄養細胞には、Fig. 7 のように5タイプの形態が認められた。これらの中で、小型のものは後に第3章で詳しく述べるが、シストから発芽して間のない細胞であることが判明した。しかしながら現時点では、*C. antiqua* であるのか *C. marina* であるのかの判別には、分離培養が必要である。また、周防灘の試料を用いてではあるが、*C. antiqua* と *C. marina* の中間のような形態の栄養細胞 (長径約 70-80µm) について数細胞の分離培養を行った結果、いずれも *C. marina* の培養が得られた。

Fig. 7, E に示したタイプのもは出現が極めて希であったが、分離培養に成功した。このタイプのもは、原・千原 (1987) のいう *Chattonella* sp. 2 (ワラジ形シャットネラ) と形態が酷似しており、同一のものとして判断される。*Chattonella* sp. 2 は鹿児島湾と播磨灘で生息が確認されており (吉松・小野, 1986; 原・千原, 1987)、今回、海底泥の培養によっ

て本タイプのものの出現が確認されたので、シスト等の耐久細胞として海底泥中で越冬しているものと考えられる。

海底泥中の Chattonella のシストの計数において、終点希釈法が実用的に利用できることがわかった。またその時には、培養液として滅菌濾過海水が、栄養強化した改変 SWM-3 培養液よりも適していることが判明した。このことは、Chattonella のシストの発芽にとって、高レベルの栄養塩は必要でないことを意味している。数種の渦鞭毛藻類においても、シストの発芽には栄養塩濃度は無関係と報告されている (Anderson & Wall, 1978; Kadotaら, 1984)。

Chattonella のシストの発芽に及ぼす温度の影響については、第1項で検討した。本項で得られた結果も第1項のそれと傾向が概ね類似しており、22°C が発芽の最適温度であることが再確認された。しかし 25°C における結果は著しく異なっていたが、その理由は現在明確でない。海底泥中には橈脚類等の大型動物プランクトンの耐久卵が存在していることが知られているが (上・笠原, 1978; Onbe, 1985)、実際に培養後の試験管中にノープリウス幼生が観察されることも希にあった。第1項の 25°C の実験では、このような動物プランクトンが悪影響を及ぼした可能性が考えられる。また別の可能性としては、C. antiqua と C. marina の最適発芽温度の範囲が少し異なっていることが考えられ、用いた海底泥試料中に存在する両種のシストの割合が相当異なっていたことも挙げられよう。

海底泥試料中の Chattonella のシストは、低温暗条件下に置くと少なくとも 15ヶ月間は発芽能力を維持した。吉田ら (1987) は、徳島県沿岸の海底泥を 5°C の低温暗条件下で保存した場合、5年後にそれを培養しても Chattonella の栄養細胞が出現することを確認した。シストは低温暗条件下で相当長期間生存できるようである。渦鞭毛藻類のシストにおいても、発芽に不適當な低温条件下で保存すると、数年間発芽能力を維持する種も多いことが知られている (Dale, 1983)。

第2節 Chattonella の年間の生活様式

貝毒の原因となる渦鞭毛藻の一種 Gonyaulax tamarensis においては、そのブルームはシストの発芽によって開始され、終息にはシスト形成が大きく関与するといわれている (Andersonら, 1983)。生活史の中でシストの時期を持つ多くの赤潮生物においては、赤潮の発生に関して同様の事が考えられる。それゆえ、赤潮の発生機構を把握するためには、シストの休眠や成熟 (発芽能力の獲得) 等についての生理的性質、およびそれらに影響を与える要因を明らかにすることが重要な鍵となる。これまで、シストの時期を含む Chattonella の年間の生活様式に関しては、全く不明であった。

本節では、Chattonella のシストの休眠や成熟に及ぼす温度の影響を室内実験によって検討するとともに、現場における海底泥中のシストの発芽能力について季節性を調べた。得られた結果について考察し、栄養細胞期ならびにシスト期を含む Chattonella の年間の生活様式を明らかにし、その生態的意義を論じた。

材料および方法

1. シストの休眠と成熟に与える温度の影響

1984年9月19日、Fig. 9に示した播磨灘の定点 St. H-16において、KK式柱状採泥器を用いて海底泥を採集した。得られた海底泥の表面から1cm深までをプラスチック容器に取ってビニール袋に包み、海面下2mの海水 (水温約24°C) を常に流している容器中に収容して研究所にもち帰った。到着後直ちに終点希釈法によって、発芽可能なシストの数を計数した。持ち帰った海底泥試料を半分ずつに分け、片方を11°C、もう一方を22°Cの温度条件下の暗所に保存し、毎月1回発芽可能なシストの数を終点希釈法で計数してシストの休眠と成熟 (発芽能力の獲得) を調べた。4ヶ月経過後、22°Cで保存中の St. H-16の試料の一部を11°Cの温度条件へと移

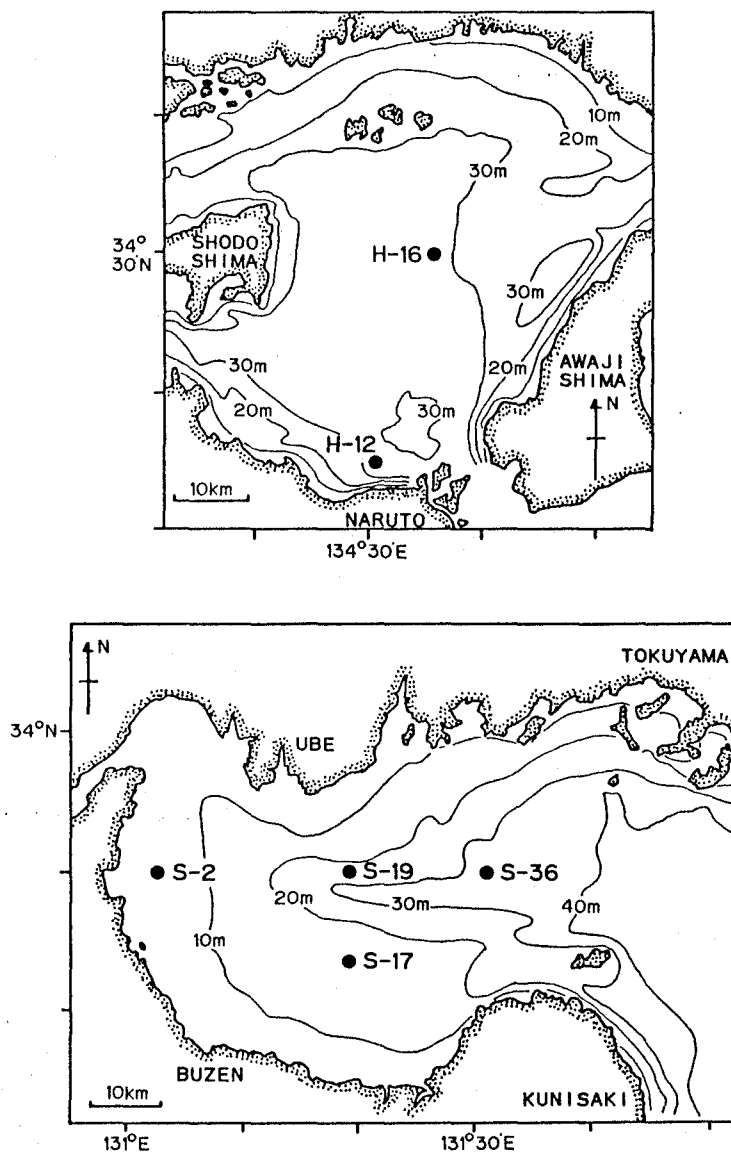


Fig.9. Location of the sampling stations in Harima-Nada (upper) and Suo-Nada (lower), the Seto Inland Sea. For studying the effects of storage temperature on dormancy and maturation of cysts in sediments, sediments were collected from St.H-16 in September 1984, and from St.H-12 in October 1985. For studying the seasonal changes in germinability of cysts from fresh sediments, samplings were made 7 times from the stations of Suo-Nada during 1985.

し、保存温度の変更がシストの休眠と成熟に与える影響を検討した。

シストの成熟に与える種々の温度の影響を調べるため、1985年10月26日に Fig. 9 に示した播磨灘の St. H-12 からKK式柱状採泥器で海底泥を採取した。表面から 1cm 深の底泥を試料として7つに分け、それぞれ異なった温度条件下 (5、11、15、18、20、22 および 25°C) に保存し、発芽能力を持つようになるシストの数の経時変化を終点希釈法によって調べた。

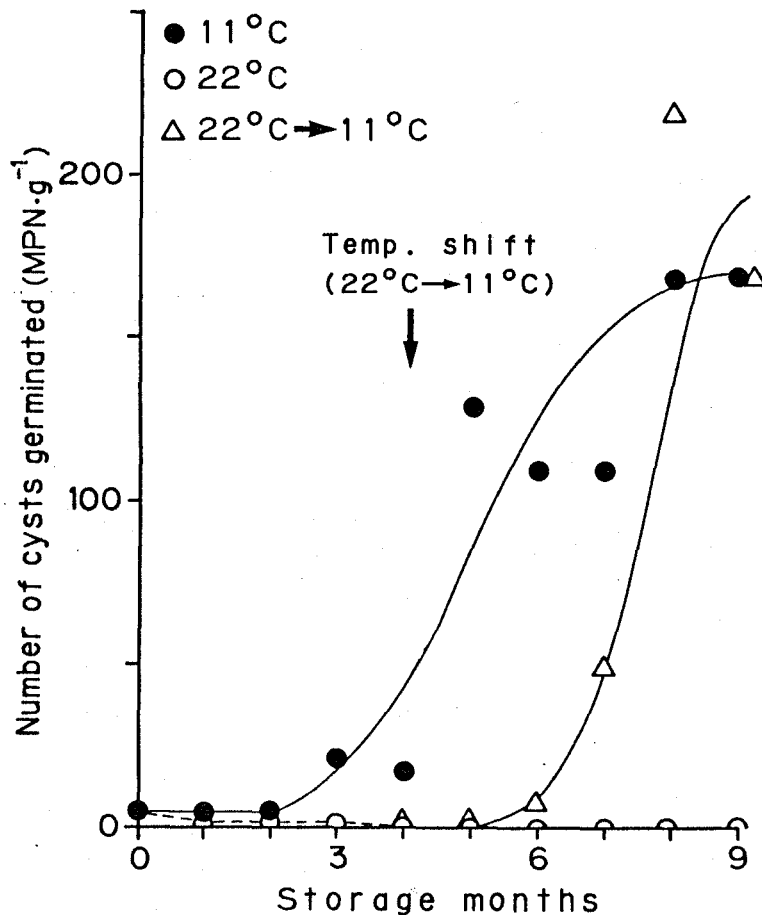


Fig.10. Effects of storage temperature on dormancy and maturation of cysts of *Chattonella* in sediments. Sediment samples were collected at St.H-16 in Harima-Nada, in September, 1984.

2. 海底泥中のシストの発芽能力における季節性

1985年1月9-10日、4月13-14日、6月24-25日、7月14-16日、8月3-6日、8月22-24日、および11月12-14日の合計7回、Fig. 9に示した周防灘の定点 St. S-2、-17、-36の3定点で柱状採泥器による採泥を行い、採泥時（1月と4月では採泥後3日以内）における発芽可能なシストを計数した。用いた底泥試料は表面から1cm深までである。またシストの発芽に影響を及ぼす温度条件は、海底上1m層の底層水温を測定することでモニターした。

1月9-10日に上述の周防灘の3定点から採集した海底泥試料を11°Cの温度条件下に保存し、毎月1回発芽能力を持つシストの数を計数した。

結 果

1. シストの休眠と成熟

1984年9月19日に播磨灘の St. H-16 から採集した海底泥を、11°Cと22°Cの温度条件下に置いた時の、発芽できるシストの数の経時的な変化を Fig. 10 に示した。22°Cの温度条件では、9ヶ月の実験期間中にシストの成熟（発芽能力の獲得=休眠の解除）は全く起こらなかった。一方11°Cの保存温度では、3ヶ月後よりシストの一部が発芽能力を獲得し始め、5ヶ月後に成熟したシストの数が急増した。海底泥試料の保存温度を22°Cから11°Cへと移した場合、その影響は極めて大きかった。すなわち、2ヶ月後から休眠の解除が始まり、4ヶ月後にはシストの成熟が急激に進行した。以上の結果は、夏季の増殖期後の海底泥に存在する Chattonella のシストが、休眠の解除に少なくとも4ヶ月間以上の低温期を要求することを示している。

Fig. 11 にシストの成熟に及ぼす種々の温度の影響を示した。海底泥試料の保存温度条件が20°C以上の場合、7ヶ月の実験期間中シストの成熟は殆ど全く進行しなかった。これに対して11°C以下の保存温度の時には、シストは発芽能力を獲得した。15と18°Cの温度条件下では、比較的少

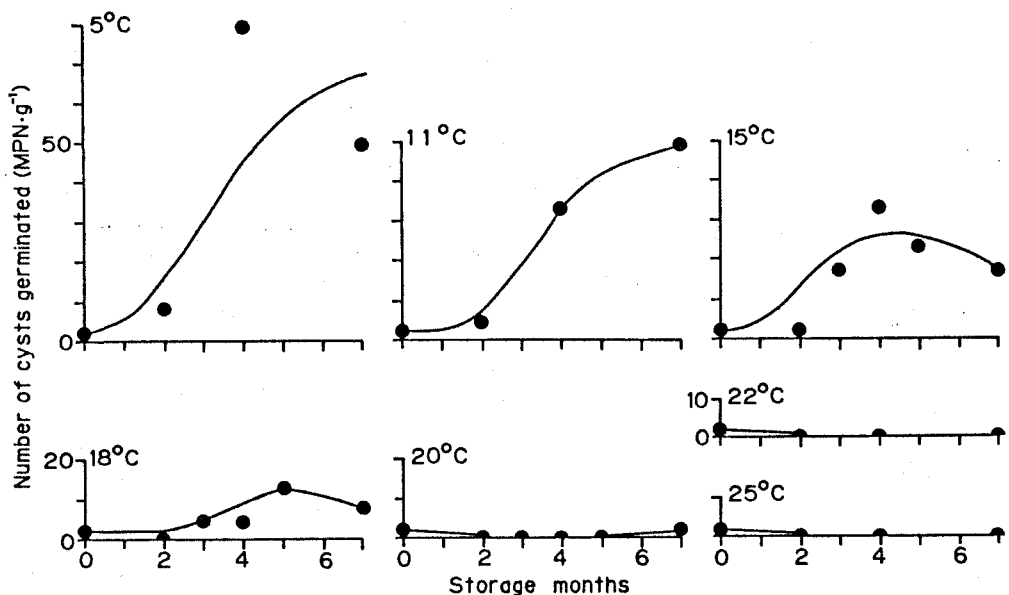


Fig.11. Effects of different storage temperatures on maturation of cysts of *Chattonella* in sediments. Sediment samples were collected at St.H-12 in Harima-Nada, in October, 1985.

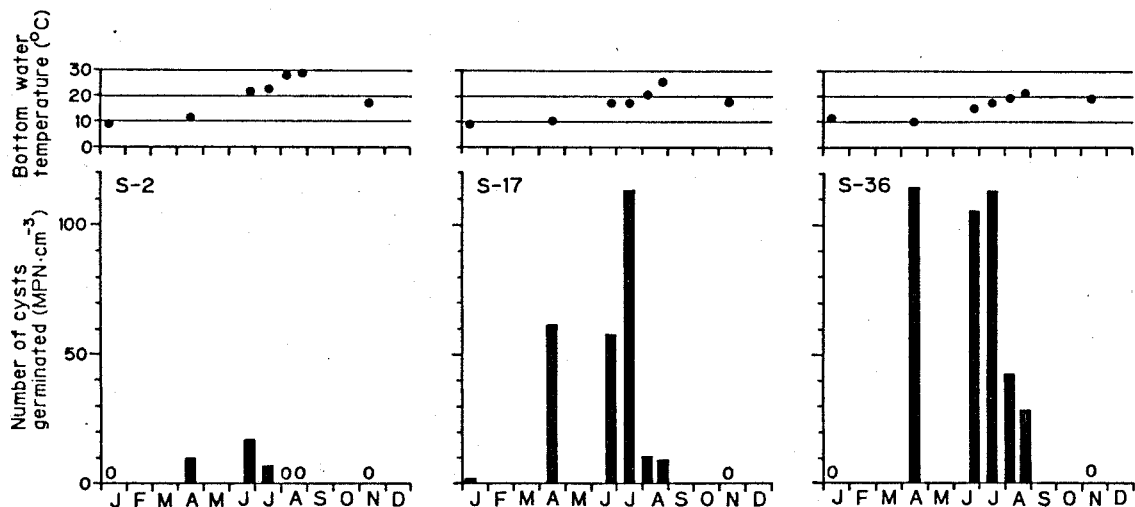


Fig.12. Seasonal changes in germinability of cysts of *Chattonella* from fresh sediment samples collected at 3 stations in Suo-Nada, in 1985. The changes of bottom water temperatures (1m above the bottom) are also shown.

数のシストが成熟するようである。

なお、終点希釈法による計数のための顕微鏡観察を行ったところ、*C. antiqua* と *C. marina* の両種共、典型的な形態の細胞の他、中間的な形態のものも認められた。

2. 海底泥中のシストの発芽能力における季節性

1985年の周防灘の3定点における、海底泥中の発芽可能なシストの数と底層水温の季節的な推移を Fig. 12 に示した。1月の時点では発芽能力を持つシストの数は非常に少ないが、4月になると著しく増加していた。底層水温は、両月共約 10°C 前後であった。多くのシストの発芽能力は7月中旬まで維持され、8月中には発芽するシスト数が急激に減少した。底層水温は8月中に著しく上昇した。その後11月の調査時には、発芽できるシストは検出できなかった。

上述のように1月と4月では底層水温がほぼ等しかったにもかかわらず、成熟したシストの数に顕著な相違があった。周防灘の3定点から1月に得た海底泥試料を 11°C の温度条件下に保存し、発芽能力を持つシストの経

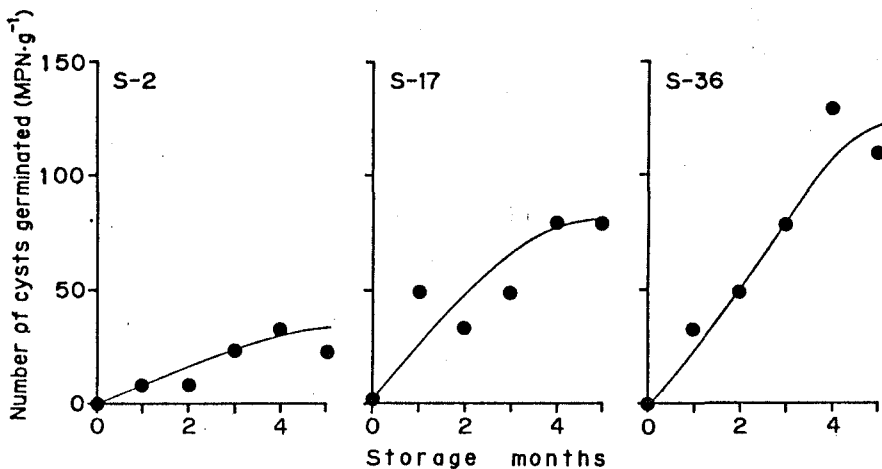


Fig.13. Sequential changes of germinability of cysts of *Chattonella* in sediments stored at 11°C in darkness. Sediment samples were collected at 3 stations in Suo-Nada, on January 9-10, 1985.

時的变化を調べた結果を Fig. 13 に示す。時間が経過するにつれて、発芽能力を獲得したシストの数が増加した。この結果から、現場海底泥中のシストの1月と4月の間の著しい発芽能力の差を説明できるものと考えられる。

考 察

高等植物の種子においては、植物プランクトンのシスト等に比べて、休眠や成熟に関する研究が進んでいる（例えば藤伊，1975）。高等植物の種子は多くの場合、形成直後では発芽に最適な条件を与えても発芽せず、種子の成熟にはある環境条件を一定期間以上経験することが必要である。このような種子の休眠状態は、遺伝的に制御された休眠、すなわち自発的休眠（spontaneous dormancy）と呼ばれている。Chattonella のシストの場合、秋から冬にかけては発芽能力を持たずに休眠し、冬季の低温期間中に徐々に発芽能力を獲得した。Fig. 10 からも明らかのように、シストの休眠の解除には最低4ヶ月間以上の低温期間が必須である。それゆえ Chattonella のシストの休眠は、自発的休眠と見なすことができよう。

多くの種類の渦鞭毛藻類においては、シストの発芽能力の獲得に一定以上の休眠期間が必要であることが知られている（Wall & Dale, 1969; Dale, 1983）。一般的にこれらの休眠は、高温条件下で期間が短く、低温では長くなる傾向があるといわれている（Dale, 1983）。例として Gonyaulax tamarensis のシスト（Anderson, 1980）が知られている。多くの渦鞭毛藻類のシストのこのようなタイプの休眠（温度条件は休眠期間に影響を与えるだけ）は、Chattonella の場合と異なったものといえよう。一方、ダム湖の赤潮生物 Peridinium cunningtonii やネパールの湖から分離された Peridinium sp. B3 の場合、シストの発芽能力の獲得には低温処理が必須であると報告されている（Sakoら, 1985, 1986）。Chattonella のシストは、上記2種の Peridinium のシストと休眠の生理が類似していると思われる。

播磨灘の St. H-16 から 1984 年 9 月に採集した海底泥を用いて Chattonella のシストの成熟に及ぼす 2 段階の温度 (11 と 22°C) の影響を調べた (Fig. 10) 際に、ラフィド藻の仲間である Fibrocapsa japonica Toriumi et Takano の栄養細胞も観察された。ちなみに F. japonica においてもシストの形態が確認されている (吉松, 1987)。海底泥試料を 11°C および 22°C のどちらの温度条件下に保存した場合でも、F. japonica のシストは発芽能力を獲得できたが、11°C の方がその数は多かった (Fig. 14)。また 22°C の温度条件下に置いた底泥試料を 4 ヶ月後に 11°C へと移すと、そのまま 22°C に置いた場合よりも多くのシストが発芽可能になった。これらの結果は、同じラフィド藻の仲間であっても、Chattonella と F. japonica では休眠の生理が異なっていることを示している。

Chattonella のシストは、10°C では全く発芽せず、15°C と 18°C で少し発芽し、20°C になると発芽量が増え、22°C と 25°C で最高になり、30°C で減少した (Fig. 8)。前述のように、4 月の時点で多くのシストは発芽能力を持っている (Fig. 12)。しかし、この時の底層水温は 10°C 前後と低いので発芽できないと考えられ、初夏の頃まで海底泥中のシストの大部分は、低い底層水温によって発芽が抑制されるものと思われる。それ以後、底層水温の上昇に伴ってシストの発芽が起こる。しばしば、瀬戸内海においては、Chattonella の栄養細胞は 6~7 月頃から表層水中で確認され始めている。

多くの高等植物の種子は自発的休眠を完了しても、環境条件 (例えば温度) が発芽に対して不適であれば、発芽しないことが知られている (藤伊, 1975)。このような種子の状態は、環境条件によって余儀なくされた一種の強制休眠 (enforced dormancy)、すなわち後休眠 (post dormancy) と呼ばれる。したがって、自発的休眠と後休眠は基本的に生理的性質が異なっており、区別して考えるべきである。春から初夏にかけての Chattonella のシストは、低い底層水温によって強制された後休眠の状態にあると考えられる。

多くの渦鞭毛藻類においては、海底泥中のシストの発芽に顕著な季節性のあることが観察されている (Wall & Dale, 1968; Anderson & Morel,

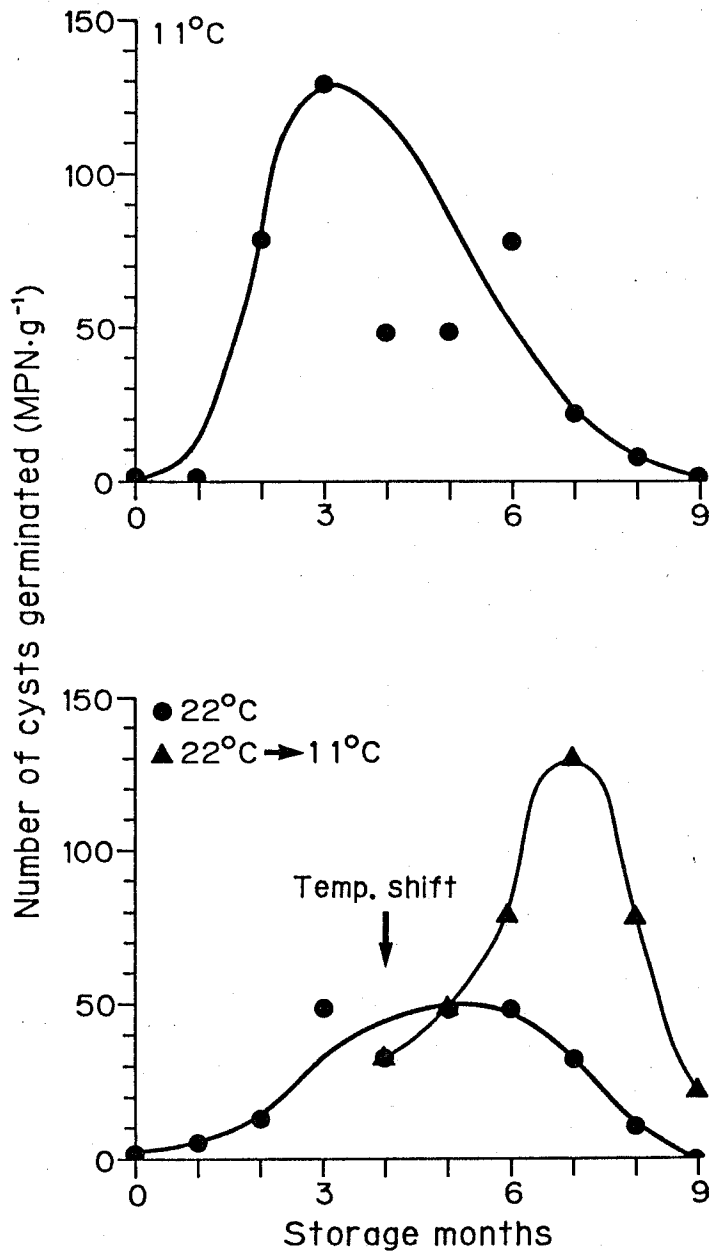


Fig.14. Effects of storage temperature on dormancy and maturation of cysts of *Fibrocapsa japonica* in sediments. Sediment samples were collected at St.H-16 in Harima-Nada, in September, 1984.

1979; Yentschら, 1980; 福代ら, 1982; 遠藤・長田, 1984)。同様に、Chattonella のシストにおいても著しい発芽能力の季節性が見いだされた (Fig. 12)。シストの発芽に与える温度の影響、シストの休眠の生理、発芽能力の季節性、ならびに現場水域での底層水温の季節変化等を総合的に考察して、Chattonella の年間の生活様式を模式的に表すと Fig. 15 のようになる。一般的に瀬戸内海においては、Chattonella の栄養細胞は 6-9 月に海水中に確認され、とくに 7-8 月に赤潮を形成することが多い。底層水温が発芽に適した温度 (約 20°C 前後と思われる) に達する初夏に、シストの発芽の結果として、栄養細胞が海水中に出現する。栄養細胞は夏の間表層水中で増殖し、一方ではシストを形成すると考えられる。形成されたシストは海底へと沈降し、翌年の春まで海底泥中で自発的休眠の期

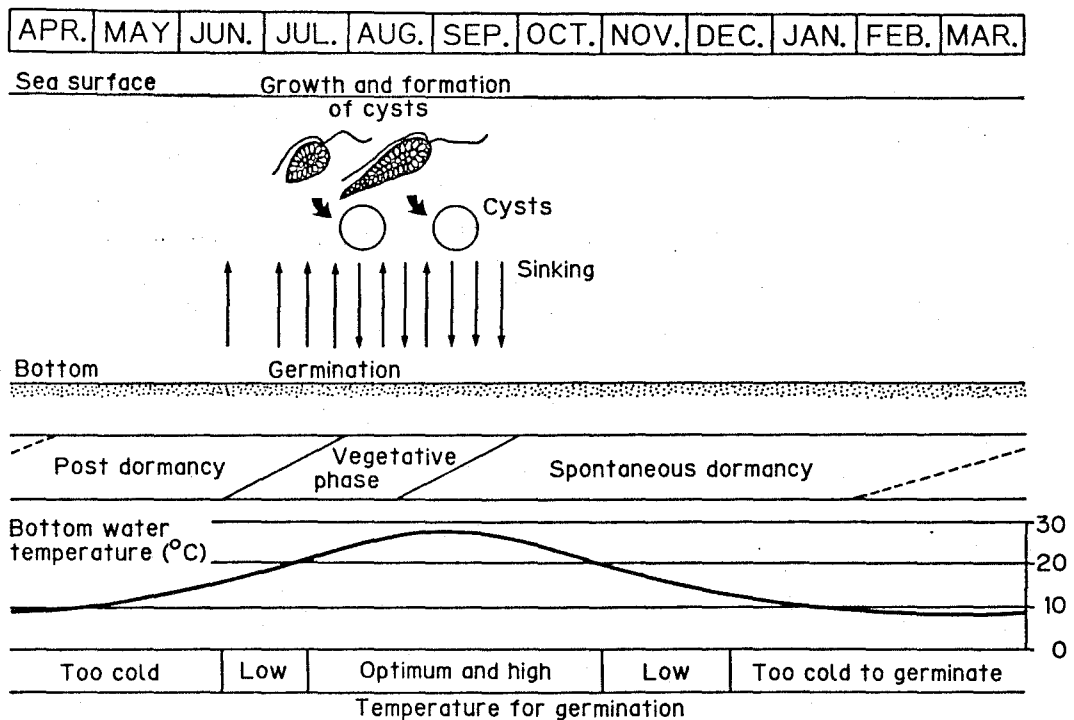


Fig.15. Schematic representation of the annual life cycle of Chattonella in the Inland Sea of Japan, including vegetative and dormant phases. The seasonal fluctuation of bottom water temperature is also shown.

間を過ごす。従って、秋の降温期に底層水温がシストの発芽に最適な範囲になってもシストは発芽しない。冬の低温期間中に休眠の解除が進んで、シストは発芽能力を徐々に獲得する。Fig. 11 に示したように、11°C 以下の温度で多くのシストは成熟するが、瀬戸内海では冬季の水温がしばしば 10°C 以下まで降下する。一方冬季のこのような低水温は、栄養細胞のままの生存を許さない（矢持, 1984a）。それゆえ、越冬の手段としてシストが極めて重要である。春になると多くのシストは自発的休眠を終えて、生理的に発芽可能な状態になる。春から初夏にかけては低い底層水温によって強制された後休眠の期間を過ごし、その後適温になるとシストの発芽を経て海水中に栄養細胞として出現する。恐らく、Chattonella は海底泥中で年間の大部分を送っているものと推定される。

生活史の中でシストを形成する赤潮生物の多くは、栄養細胞にとって好ましくない環境をシストによって乗り切るといわれる（Wall, 1975; Dale, 1983; Sandgren, 1983; 中原, 1986; 中原・左子, 1987）。シストは、場における種の継続的生存を可能にする "survival strategy" として認識されてきた（Dale, 1983; Sandgren, 1983）。同様に、Chattonella のシストも越冬という重要な役割を果たしている。しかしながら一方で、シストの成熟（発芽能力の獲得）に低水温の期間を必要とする。このことは、翌年の夏における栄養細胞個体群の確立のために冬を必要とすることを意味する。すなわち、Chattonella は夏に赤潮を形成する生物であるにもかかわらず、シストの成熟という局面において積極的に冬に適応していると考えることができよう。温帯水域である瀬戸内海での温度の季節変化を考慮した場合、Chattonella の年間の生活様式は瀬戸内海の海洋環境に実に良く適応しているといえる。このような Chattonella の生活史は、単なる受動的な生存戦略と考えるよりも、環境に対してさらに一層積極的に適応した生存戦略、すなわち "adaptive survival strategy" と認識するのが妥当と考えられる。

シストは、その機能をよく発揮するためには、浅海域の海底に存在する必要がある。水深が深くて、底層水温がシストの発芽できる範囲に達しなければ、もはや seed population の機能は果たし得ないであろう。瀬戸

内海の大部分は水深が浅いので、Chattonella にとっては生活場所の交代（夏はプランクトンとして海水中、他の季節はシストとして海底泥中）が容易であると判断される。瀬戸内海は、気候的な面だけでなく、浅海域であるという地形的な面からも、Chattonella 赤潮の発生し易い海域であると言えよう。

第3節 シストの二次休眠

高等植物においては、正常に発芽できる生理的状态にある種子が、一時的に不適な環境条件下に置かれると再度休眠状態になってしまうことがある。このような現象は一般に二次休眠と呼ばれている（藤伊，1975）。二次休眠を解除するためには、低温処理等、通常の休眠解除に用いられる処理を必要とする場合が多い。

第2節において、周防灘の海底泥中のシストについて発芽能力の季節性を調べたところ、1985年8月の1ヶ月間に底層水温の上昇に伴って発芽可能なシストの数が著しく減少することが確認された。この現象の理由として、①シストの大部分が発芽した、②海底泥表面のシストは発芽したが埋まっていたものは死滅した、③同様に表面のシストは発芽したが埋まっていたものは再度休眠状態になった、等が挙げられる。Andersonら（1983）によれば、有毒渦鞭毛藻 Gonyaulax tamarensis のシストは、ブルームの期間中も海底泥中に発芽しないまま数多く残存し、翌年に持ち越されるという。

Chattonella のシストにおいて、もしも二次休眠を行う潜在的能力があるとなれば、赤潮発生のための seed population としての機能を考えるうえで大変に重要な意味を持つことになる。本節では、この点に主眼を置いて検討を行った。また、海底泥試料中のシストが再度休眠状態になるのに及ぼす温度の影響についても調べた。

材料および方法

第2節の Fig. 9 に示した周防灘の3定点（Sts. S-2, -17, -36）において、1985年8月上旬と下旬に採泥を行い、採泥直後ならびに6ヶ月間 11℃ の冷暗所で保存した後に、終点希釈法によって海底泥試料中（表面から 1cm 深まで）の発芽可能なシストを計数した。

二次休眠の検討には、1985年4月に周防灘の St. S-17 および播磨灘の

St. H-16 (Fig. 9) から得た海底泥 (表面から 1cm 深まで) を用いた。採泥後 5ヶ月間、11°C の冷暗所に海底泥試料を保存した後、実験を開始した。まず温度 22°C の暗所に 2ヶ月間海底泥試料を置き、次いで 11°C へと保存温度を変えて 5ヶ月間置いた。その後再び 22°C の暗所に 2ヶ月間置き、再度 11°C へと保存温度を移した。この間、初めの 7ヶ月は毎月 1回、その後は概ね 2ヶ月に 1回の割合で、発芽可能なシストの数の経時的な変化を終点希釈法によって調べた。

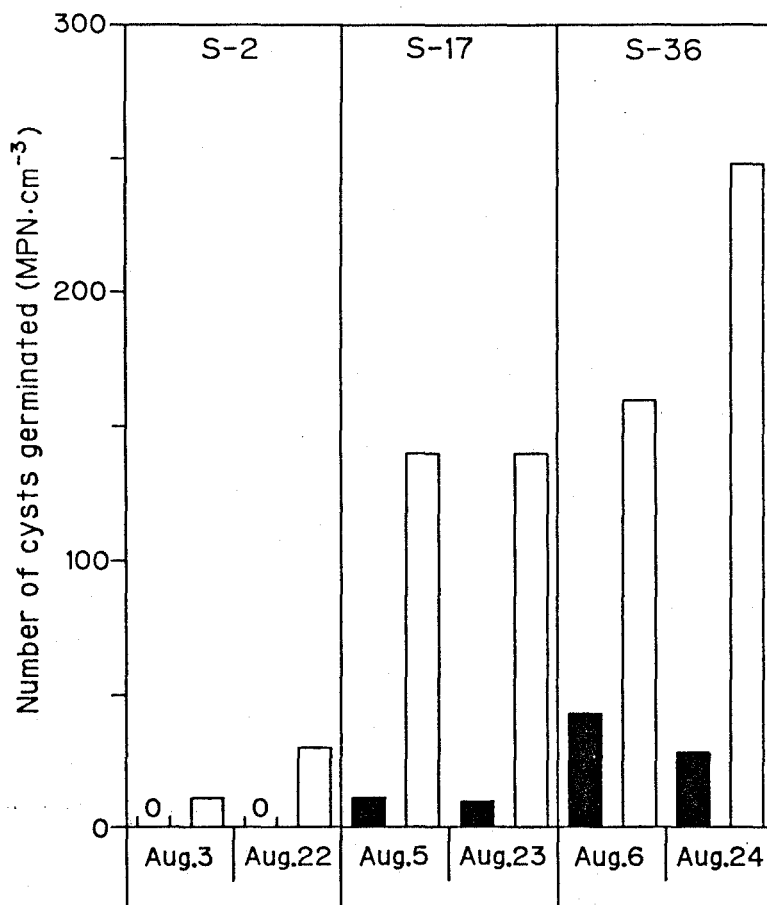


Fig.16. Comparison of the germinability of cysts of *Chattonella* from fresh (closed columns) and stored (open columns) sediments. Sediments were collected at 3 stations in Suo-Nada, in August, 1985, and then stored at 11°C in darkness.

海底泥中の発芽能力を持つシストが、再度休眠状態に入る温度条件を調べるための実験には、1985年11月に周防灘中央部の St. S-19 (Fig. 9) より採集した海底泥試料（表面から 1cm 深まで）を使用した。試料中のシストを成熟させるために（発芽能力を持たせるため）、11°C の冷暗所に5ヶ月間置いた後、実験を始めた。7段階の温度条件下（5, 11, 15, 18, 20, 22 および 25°C）の暗所に海底泥試料を置き、発芽能力を持つシスト数を終点希釈法によって経時的に調べた。

結 果

1985年8月の上・下旬共に、採泥直後の現場海底泥中には発芽能力を持つシストは少なかった (Fig. 16)。しかし、これらの海底泥試料を 11°C の冷暗所に6ヶ月間置くと、発芽能力を持つシストの数は著しく増加した (Fig. 16)。従って、8月の時点で海底泥中に存在するシストの大部分は、新しく形成されたものか発芽せずに持ち越されたものかは不明であるが、発芽能力を持たずに自発的休眠の状態にあることがわかった。

次に、Chattonella のシストの二次休眠の可能性について検討した結果を Fig. 17 に示す。充分成熟して発芽能力を持つシストが含まれている海底泥試料を、温度 22°C の暗条件下に置いた場合、2ヶ月以内に発芽できるシストの数が激減した。その後底泥試料を 11°C の冷暗所に移すと、発芽可能なシストの数が徐々に増加した。また、11°C に5ヶ月間置いて後再び 22°C 暗条件へと移すと、2ヶ月以内にシストは発芽しなくなった。再度 11°C へと温度条件を変えた時、周防灘の St. S-17 の試料中のシストは発芽能力を回復することができなかったが、播磨灘の St. H-16 の底泥試料中のシストは少数ながら発芽能力を回復した。以上の結果から、Chattonella のシストは底泥試料中に埋没して存在すると、発芽に好適な温度条件（22 °C）を与えても発芽せず、その状態が約2ヶ月間続くと殆ど全部のシストが発芽しなくなって休眠状態（二次休眠）に入ることが示された。しかもこの休眠は通常の自発的休眠と同様、低温条件下（11°C）に置くことによって解除されることが明らかとなった。

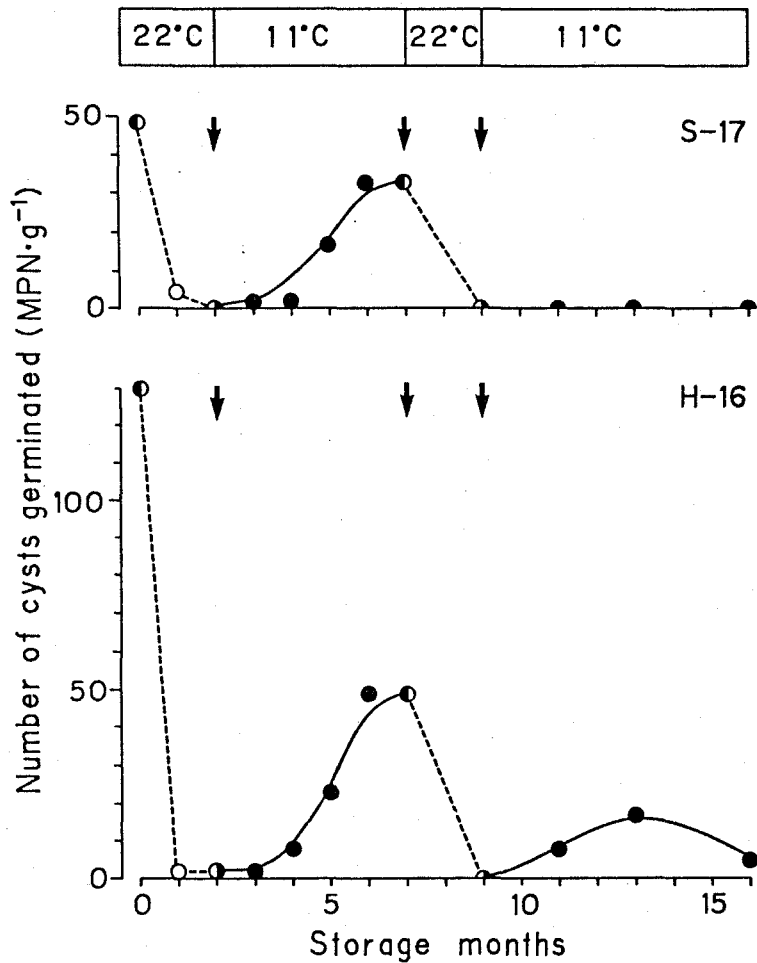


Fig.17. Effects of shifts of storage temperature on dormancy and maturation in cysts of Chattonella in sediments. Arrows indicate the point of time of temperature shifts.

Chattonella のシストの発芽能力の維持や休眠誘導に与える海底泥試料の保存温度の影響を Fig. 18 に示した。海底泥試料中の発芽能力を持つシストは、11°C 以下の低温条件下に置いた場合、発芽能力は失われず維持され続けたが、15°C と 18°C の保存温度の時は徐々に発芽能力を失い、20°C 以上の温度条件下に置くと急速に発芽しなくなった。

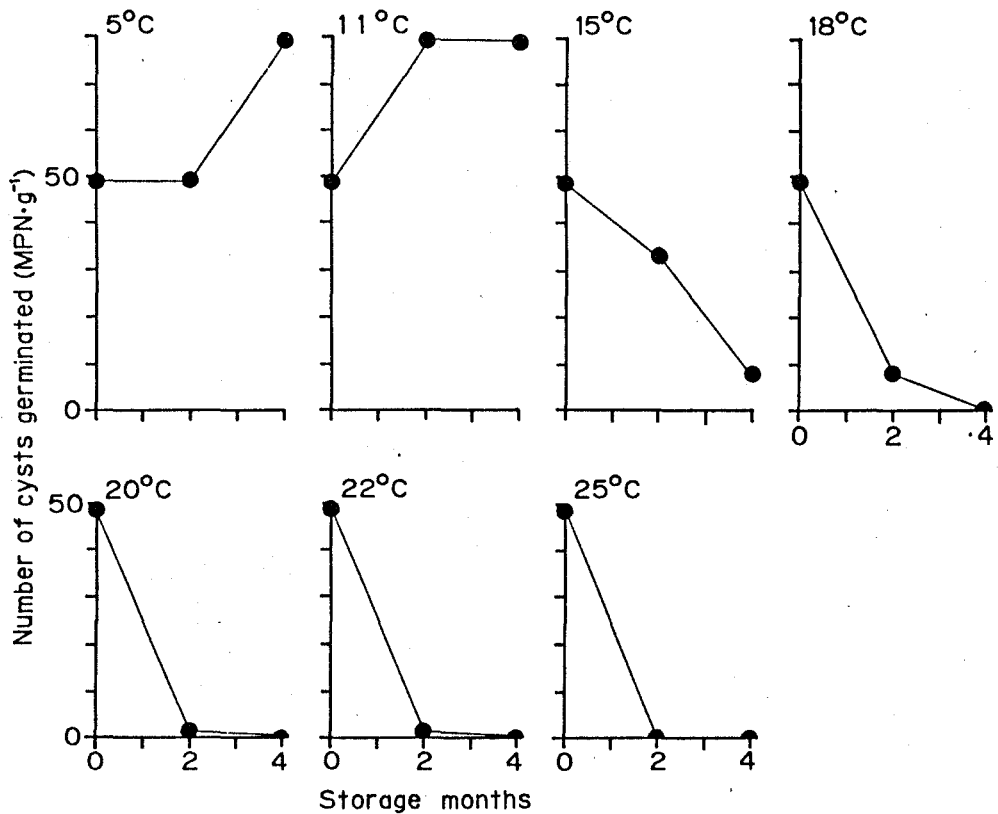


Fig.18. Effects of different storage temperatures on dormancy induction in cysts of Chattonella in sediments.

考 察

Chattonella のシストは二次休眠をする能力を持つことが判明した。前述したように陸上高等植物の種子においては、二次休眠はよく知られている現象である。しかしながら、赤潮生物を含む藻類のシストや休眠胞子については二次休眠に関する研究例は殆ど無く、よく知られていない。現在二次休眠が報告されているものとしては、車軸藻の仲間である Nitella furcata の卵胞子 (Sokol & Stross, 1986)、珪藻類の一種 Eunotia soleirolii の休眠胞子 (von Stosch & Fecher, 1979)、および有毒渦鞭毛藻類の Gonyaulax tamarensis のシスト (Anderson & Keafer, 1987) が挙げられる。

Chattonella のシストが二次休眠をする能力を持つということは、夏季の赤潮発生のための seed population としてのシストの役割を考えるうえで、非常に重要な意味を持つ。夏季を迎えて底層水温が発芽に適した範囲に達すると、海底泥表面のシストは発芽するが、海底泥中に埋没しているシストは発芽できないと考えられる。動物プランクトンの橈脚類の耐久卵においては、海底泥中に埋没した場合には孵化できないことが報じられている (Uyeら, 1979; Marcus & Schmidt-Gengenbach, 1986)。発芽できなかった Chattonella のシストは、夏の終わり頃には発芽能力を失い (死亡したわけではない)、二次休眠の状態になっていると推定される。一方、この頃には新しく形成されたシストも海底へと沈降し、自発的休眠の状態にあると思われる。新旧の両シスト群は次に続く冬の低温期間中に成熟 (発芽能力を獲得) し、翌年の夏のための seed population になるであろう。また Fig. 17 に示されたように、場合によっては2回以上二次休眠できるシストも存在している。このことは、2-3年連続して Chattonella 赤潮の非発生年が続いたとしても、海底泥中のシストの量は著しくは減少しないことを示唆している。それゆえ、赤潮の非発生年が数年間続いても、ある年に赤潮が発生する危険性は容易に無くならないと考えられる。

発芽能力を持つ Chattonella のシストは、温度 11°C 以下ではその能力を維持し続け、15°C と 18°C では徐々に休眠状態に入り、20°C 以上で急速に休眠状態になった (Fig. 18)。一方、発芽能力を持たず休眠状態にあるシストは、20°C 以上では殆ど全く休眠が解除されず、15°C と 18°C では一部分のシストが発芽能力を獲得し、11°C 以下で多くのシストが発芽可能になった (第2節, Fig. 11)。このように、シストの休眠や成熟に対して温度が非常に大きな影響を及ぼしている。すなわち、11°C 以下の低温は休眠が解除される方向に作用し、20°C 以上の高温は休眠状態へと突入していく方向に作用しているようであり、15-18°C の温度域はこれらの境界であると思われる。また、休眠の解除されたシストの発芽に好適な温度範囲は 20°C 以上であった (Figs. 4, 8)。夏季に現場海域で底層水温が 20°C 以上になった時、シストは発芽してしまうか、あるいは再度休眠状態に入ってしまうかの、いずれかに対応をすることになるのである。

第3章 シストの形態

陸水や海水中に生息する赤潮生物を含めた植物プランクトンの仲間では、生活史の中に耐久細胞の時期を持つものが多く存在する。藍藻類においては、栄養細胞の細胞壁がそのまま厚くなって貯蔵物質を豊富に貯え、休眠状態であるアキネートを形成することが知られている。また緑藻類の中には有性生殖によって接合子 (Zygote) を作るものが多いが、この他にパルメラ様群体を形成して不適環境条件の時期を乗り切るものもある (中原・左子, 1987)。渦鞭毛藻類においては多くの場合、有性生殖の結果シスト (接合子) を形成する (Dale, 1983; 福代, 1987)。黄色鞭毛藻類に関しては、シストが有性的および無性的に形成されることが報じられている (Sandgren, 1983)。珪藻類の休眠胞子は不適環境条件下 (例えば窒素源欠乏) で無性的に母細胞の被殻内に形成されることが多く (Hargrave & French, 1983; Garrison, 1984)、海底へと沈降して不適な時期を過ごすと言われている (Smetacek, 1985)。

ラフィド藻の仲間は藻類の分類群の中では小さいグループを構成しており、生活史に関する研究例も少ない。淡水に生息している Gonyostomum semen (Ehrenb.) Diesing (Drouet & Cohen, 1935) と Vacuolaria virescens Cienkowski (Spencer, 1971) においてシストの形成が観察されているが、機作は不明である。また、海産種では Hornellia marina (= Chattonella marina) が接合過程を経て球形の接合子を形成したと報じられているが (Subrahmanyam, 1954)、その後の実験観察が行われてないため、それが果たして真に接合子であるのか、あるいは耐久性を持つシストになったのか等は明らかでない。

本章においては、第1節で瀬戸内海の海底泥中に存在するシストを探索し、その結果発見したシストの形態を記述した。第2節では、培養条件下でシスト形成を試み、形成されたシストについて天然シストと形態を比較し、さらにはシストの形成条件に関する若干の検討を行った。

第1節 海底泥中のシストについて

貝毒原因渦鞭毛藻 Gonyaulax tamarensis では、古い培養や、培養温度を 5°C 以下あるいは 25°C 以上にするによって、“シスト”が形成されることから、本種は栄養細胞にとって不適な時期をシストとして海底で過ごし、そのシストが次の bloom のための発生源になるであろうと Prakash (1967) は推定した。その後、この“シスト”はいわゆる耐久性のシストとは異なり、temporary cyst であることがわかったのであるが、それが引き金となって天然の海底泥試料からシストが発見されて形態が明らかにされてからは (Dale, 1977)、シストの生理生態に関する研究が精力的に展開された (Anderson & Wall, 1978; Anderson & Morel, 1979; Anderson, 1980; 等)。

Chattonella においては、これまで多くの研究者によって海底泥中に存在するはずのシストの探索が行われてきたが、成功に至らなかった。本節においては、これまで形態が全く不明であった Chattonella のシストについて、その探索方法を検討し、海底泥中に存在する天然のシストの形態を明らかにした。

材料および方法

1. シストの探索

供試した海底泥は、1985年4月に Fig. 19 に示した周防灘の1定点 St. S-35 から K K 式柱状採泥器を用いて採集し、表面から 1cm までを分取して、11°C の暗条件下に保存したものである。海底泥試料をそのまま検鏡観察したのでは、形態についての情報が全くない Chattonella のシストを発見することは不可能と考え、次のような手順で、シストを海底泥から濃縮する試みを行った (Fig. 20)。

湿重量 2g の海底泥試料を滅菌濾過海水中に懸濁し、超音波処理を行った後、篩を用いて 20-75 μ m の画分を調製した。海水に metrizamide (2-[3

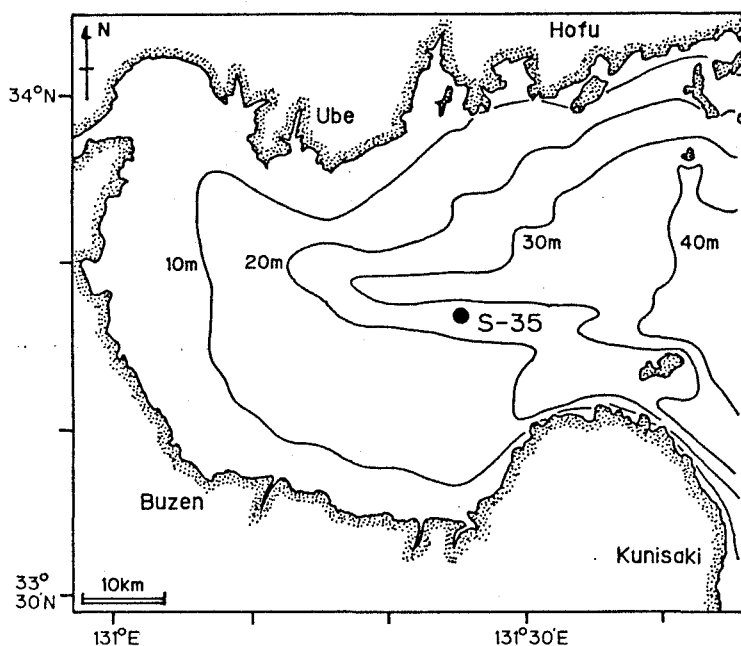


Fig.19. Location of St.S-35 in Suo-Nada, western Seto Inland Sea.

-acetamido-5-(N-methylacetamido)-2,4,6-triiodobenzamido]-2-deoxy-D-glucose) を溶解させて比重 1.4 の溶液 (Andersonら, 1985b) を作り、2本の供栓ガラス遠心沈澱管に 2.5ml ずつ分注後、上記の粒子径画分試料を静かにのせた。これらの遠心沈澱管に、1,000rpm (約 190xg)、10 分間の遠心分離操作を加え、得られた上澄みを目合い (メッシュ) 20 μ m の篩を通して濾過海水で充分洗浄して、10ml の海水中に懸濁した。これをシストの探索に用いた。

シスト探索のための前段として、まず、落射蛍光顕微鏡を用いた青色励起光による検鏡観察を行い、赤色蛍光を発するものの形態を記録した。この観察作業は、発芽の近い *Gonyaulax excavata* や *G. tamarensis* のシストが青色励起光によって、葉緑体起源の赤色蛍光を発するという報告 (Yentschら, 1980; Anderson & Keafer, 1985) に依拠したものであり、*Chattonella* のシストも同様に蛍光を発すると予想した。この観察記録をもとに、上記懸濁液からマイクロピペットでシストと思われるものを1個

ずつ分離して、0.1ml の海水を入れた組織培養用容器 (Falcon, 96 区画) の各区画中で各々培養した。水分の蒸発を防ぐために、海水上に適量の流動パラフィンをのせた。培養は温度 22°C、照度 1,800lx、明暗周期 14hL-10hD の条件下で行い、倒立顕微鏡を用いて観察した。培養期間中にシス

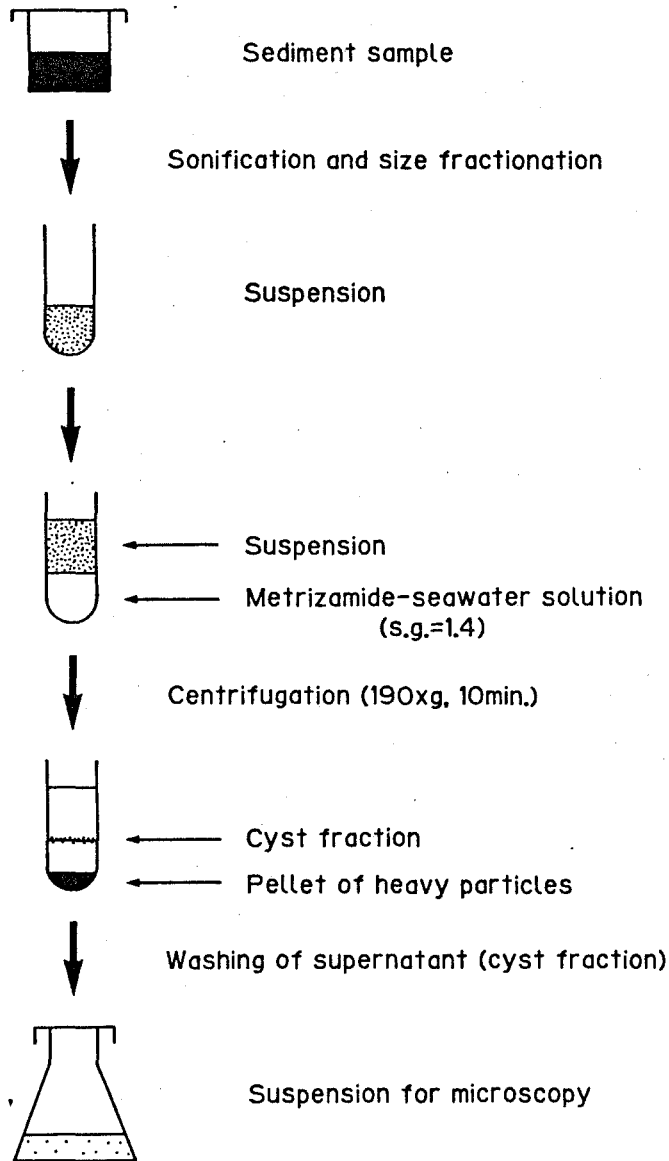


Fig.20. Process for concentrating cysts of Chattonella from sediment sample.

トの内容物が空になり、培養容器の区画内に栄養細胞が確認された場合を、Chattonella のシストが発芽したことの根拠とした。なお、ここで用いた海水中には GeO_2 を $1\text{mg} / 1$ の濃度になるように添加した。これは、シストの分離培養を行う際に万一混入した微小な珪藻（休眠孢子を含む）の増殖を防止するためである（舘脇，1979）。

2. C. antiqua と C. marina のシストの識別

重要種である C. antiqua と C. marina のシストの識別を、形態面から試みた。海底泥試料は、1986年5月に Fig. 6 に示した燧灘の定点 St. HB-11 から K K 式柱状採泥器で採集し、表面から 1cm 深までを 11°C の冷暗所に保存したものをを用いた。予備的に底泥試料を培養したところ、比較的高頻度に C. antiqua の栄養細胞が認められた。また後述するが、この定点は、燧灘における Chattonella のシストの高密度域に位置する。

適量の海底泥試料を滅菌濾過海水中に懸濁し、超音波処理後、ナイロン網地を用いて $20\text{-}100\mu\text{m}$ の粒径画分懸濁液を調製した。この中からマイクロピペットで Chattonella のシストを分離し、 0.1ml の海水を入れた組織培養用容器の各画分に収容後、上述の条件下で培養を行った。培養の結果、シストから発芽した栄養細胞をマイクロピペットで分離し、改変 SW M-3 培養液（Chenら，1969；伊藤・今井，1987）で増殖させた。増殖した栄養細胞の形態に基づいて（Ono & Takano，1980；原・千原，1982，1987）、それぞれのシストの種を決定した。

3. シストの形態観察

Chattonella のシストの形態観察には、1986年3月に周防灘の St. S-35（Fig. 19）から採集した海底泥試料を用いた。上述のようにして粒子径 $20\text{-}100\mu\text{m}$ の画分の懸濁液を調製し、倒立落射蛍光顕微鏡を使って形態と自家蛍光を観察した。また、この懸濁液を最終濃度 1% の glutaraldehyde で固定し、4'-6-diamidino-2-phenylindole（DAPI）を用いて核を染色した（濃度 $5\text{-}10\mu\text{g} / \text{ml}$ ）後に、倒立落射蛍光顕微鏡下での観察を行った。DAPI は近年、水中や干潟堆積物中の細菌の検出と計数、なら

びに微小な原生動物や藻類の核の観察に有効に用いられるようになってきている (Porter & Feig, 1980; Coleman, 1982; Liddle & Hori, 1983; Sherr & Sherr, 1983; 今井, 1984; 今井・伊藤, 1984; Imai, 1987)。

走査型電子顕微鏡 (SEM) での Chattonella のシストの観察も実施した。海底泥試料懸濁液からマイクロピペットで生シストならびに空シストを分離し、濃度 1% の glutaraldehyde 入り海水中で固定した。冷暗所 (5°C) に 1 晩置いた後 Nuclepore filter (孔径 0.4 μm) 上に捕集し、高山 (1981) の方法に従って、脱塩、脱水、酢酸イソアミル置換、臨界点乾燥、および金蒸着を行った。シストの観察には日立 S-500A 走査電子顕微鏡を用い、20kV で外部形態を観察した。

結果および考察

1. シストの探索

当初、シストの探索のために、海底泥試料中のシストを濃縮する手段として、篩を用いて大きい粒子と小さい粒子を取り除く方法に依存していたため、シストの探索開始後 4 年以上の間発見することができなかった。しかし、比重法を採用した濃縮手法 (Fig. 20) によってシストの分別が容易にできるようになった。すなわち、metrizamide を用いることで比重約 1.4 以上の重い粒子を取り除くことができ、最後の検鏡観察の段階ではシストの探索が極めて容易になった。

Fig. 20 に示した手順で作成した検鏡用試料を用いてシストの探索と培養を行ったところ、第 1 回目の実験シリーズでは、シストと推定される粒子を 1 個ずつ収容し、培養した 63 区画のうち 2 区画から Chattonella と思われる栄養細胞が見いだされた。次に、シストらしい形態の粒子を分離して、52 区画中に収容し、培養を行った結果、12 区画で栄養細胞の出現が再度確認された。そこで、シストの形態の確認もほぼ可能になったので、それに基づいて確認されたシストをそれぞれ 24 区画中に分離収容し、5 日まで毎日、および 11 日目と 23 日目に検鏡観察したところ、培養開始後 2-3 日で 11 区画からシストの発芽が認められた。

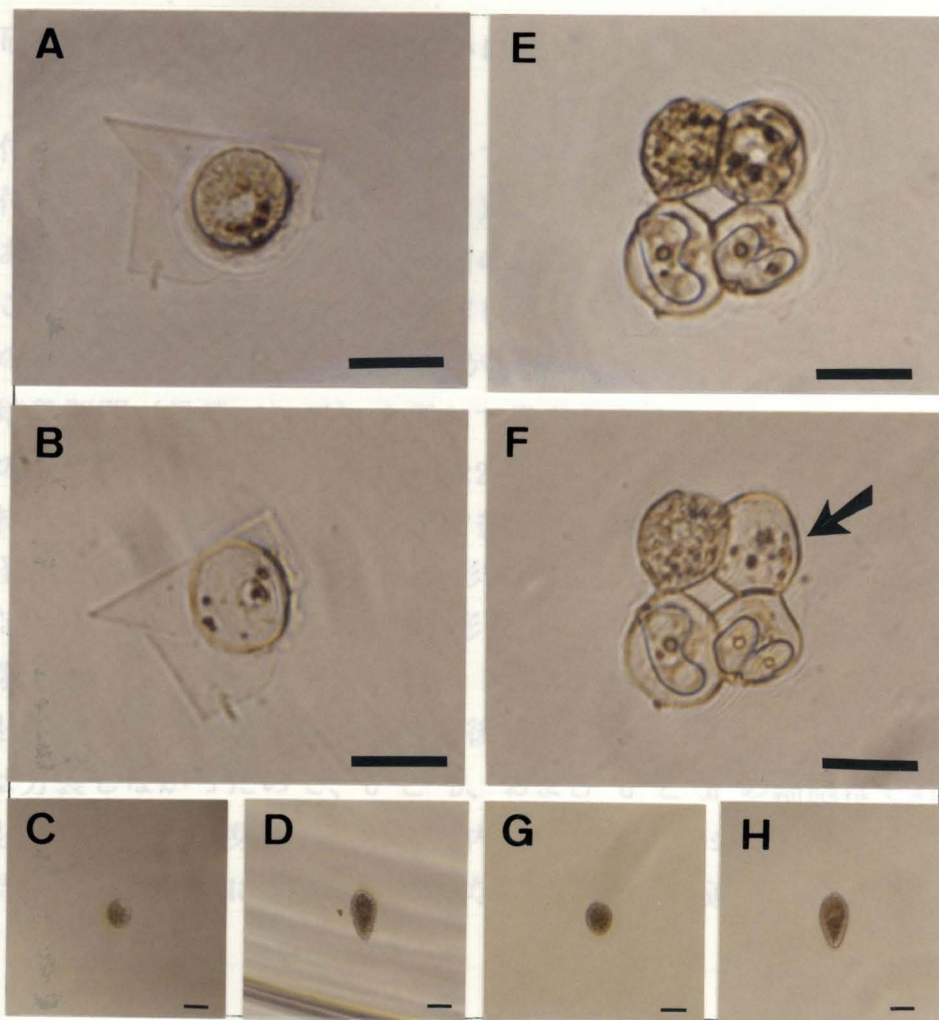


Fig.21. Microphotographs of cysts of *Chattonella* and vegetative cells germinated from cysts. (Scale bar=30µm)

A-D, Cyst incubation, series 1.

A: A living cyst adhered to thin solid surface. Black spots are visible.

B: Empty cyst after germination. Black spots are remained.

C: Vegetative cell germinated from the cyst shown in A, within 24h after the germination.

D: The same vegetative cell as in C, 2-3 days after the germination.

E-H, Cyst incubation, series 2.

E: A cluster of 4 cysts.

F: An empty cyst after the germination (indicated by an arrow) and other 3 cysts not germinated through incubation period of 23 days.

G: Vegetative cell germinated from the cyst shown in E, within 24h after the germination.

H: The same vegetative cell as in G, 2-3 days after the germination.

本研究で初めて発見され、明らかになった *Chattonella* のシストの形態を Fig. 21 に示す。発芽前のシストは黄緑色～茶色を呈し、珪藻の被殻等に付着しているものが多く、単一で存在するとき (Fig. 21, A) と、数個が付着して塊状 (空シストも含む) となって存在する場合 (Fig. 21, E) とがあった。多くのシストには数個の濃褐色あるいは黒色の斑点があったが、これらは発芽後もシストに残存した (Fig. 21, B, F)。内部に空胞様のものを含むシスト (Fig. 21, E) が時々認められたが、それらは色も薄く、培養期間 (最長 23 日) を通じて発芽しなかった。*Chattonella* のシストの形態を模式的に描くと Fig. 22 のようになる。シストの外壁は装飾物を持たず平滑であった (例えば Fig. 25, A, B)。シストは背面から見ると直径約 25-35 μm の円ないし楕円形であるが、側面から見ると付着面が扁平な高さ約 15-25 μm の概ね半円形をしていた (例, Fig. 25, B)。

発芽後 24 時間以内の栄養細胞を Fig. 21, C と G に、その後 2 日経過したものを D と H に示した。発芽後 2 日の間に用いた培養条件下で栄養細胞は分裂しなかったので、C と D、および G と H の細胞はそれぞれ同一のものである。発芽後 24 時間以内の栄養細胞はシストの大きさに近いが、時間の経過と共に細胞が大きくなった。この一連の実験で観察された

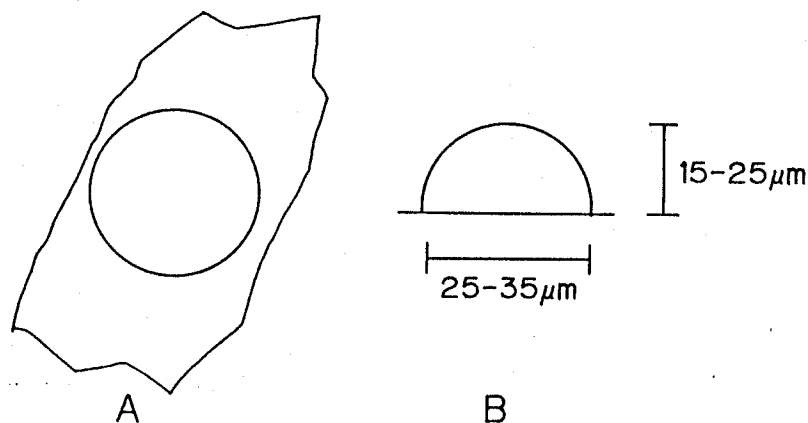


Fig. 22. Schematic representation of cysts of *Chattonella*.
 A: Dorsal view. Cysts are often found to adhere to solid surfaces such as fragments of diatom frustules.
 B: Lateral view.

栄養細胞は、幅約 30 μ m 長さ約 60 μ m であり、C. antiqua か C. marina かの区別はできなかった。

2. C. antiqua と C. marina のシストの識別

海底泥から得た C. antiqua と C. marina のシストおよび、それぞれのシストから発芽した栄養細胞を培養液（改変 SWM-3）に植えて増殖させた栄養細胞を Fig. 23 に示す。両種のシストは共に形態が酷似しており、両者をそのまま識別する基準となるような形態的相違点は認められなかった。従って、両種のシストの識別を行うために、シストを培養し、発芽した栄養細胞を培養液中で増殖させてその栄養細胞の形態を基本として区別した。このような事情は、有毒渦鞭毛藻類の Protogonyaulax tamar-ensis と P. catenella の場合と共通している（福代ら，1982）。

最近、Chattonella の栄養細胞の種内・種間の識別についてモノクローナル抗体を用いた新しい技法が開発された（Hiroishiら，1988；Uchidaら，1989）。このような観点からの新技術を導入し、将来シストの種判別が可能になれば、現場海底泥中の両種のシストの存在割合が明らかになり、どちらの種が次に赤潮を形成し易いか等を予想するための重要な情報が得られるであろう。

3. シストの形態的特徴について

Chattonella のシストは Fig. 23 にも例示したように、通常の栄養細胞と比べれば著しく小さい。淡水産ラフィド藻類の一種である Gonyostomum semen においても、栄養細胞（平均細胞長 62.5 μ m）に比較してシスト（径約 30 μ m）は著しく小さいことが観察されている（Drouet & Cohen, 1935）。さらに、G. semen のシストの中には濃褐色の塊（large clumps of dark brown materials）があり（Drouet & Cohen, 1935）、この特徴も Chattonella のシストと類似しているといえよう。

Chattonella のシストの多くは、珪藻の被殻等に付着していることは既述した。海底泥中のシストがどのようなものに付着しているかを、1986年3月に周防灘の St. S-35 から採取した海底泥について調べた（Table

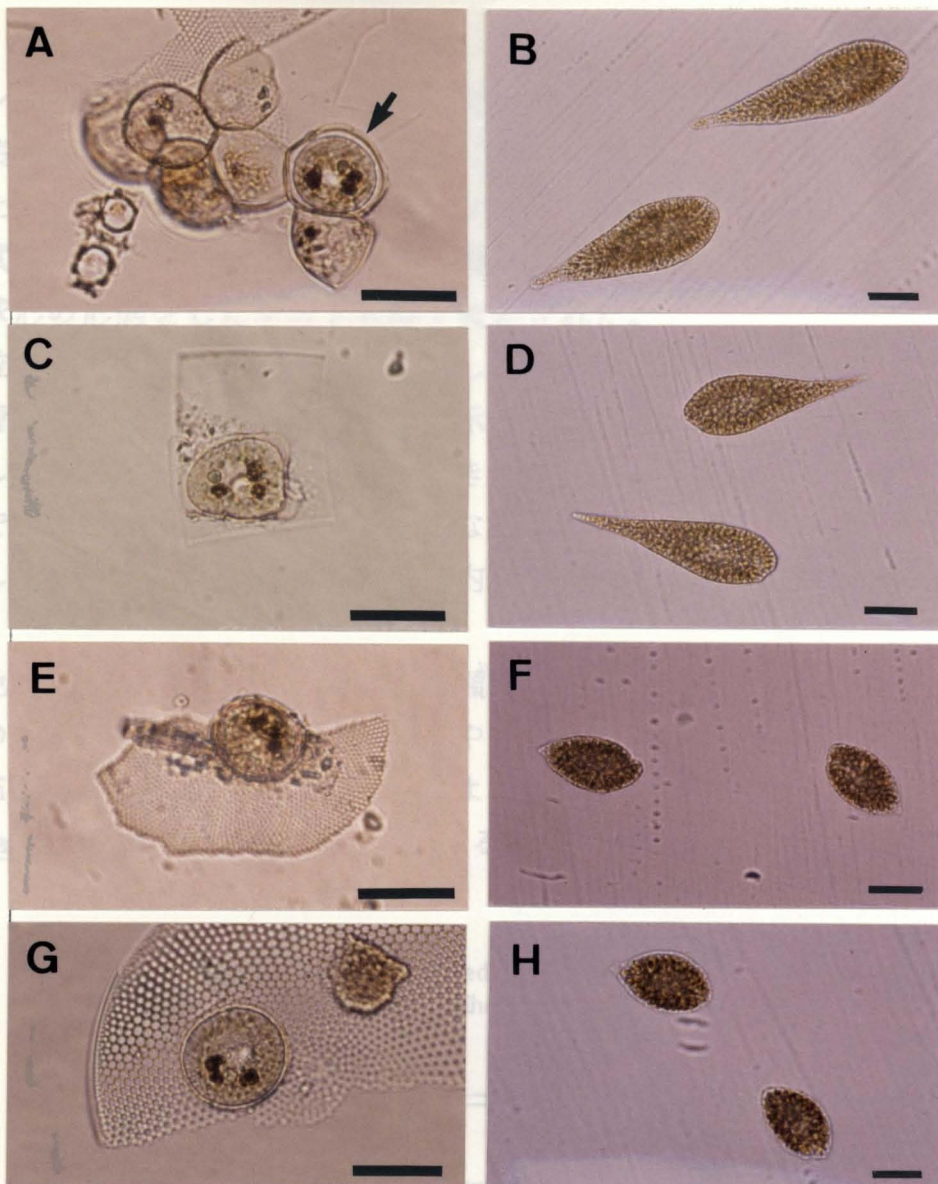


Fig.23. Cysts and vegetative cells of *Chattonella antiqua* and *C. marina*. (Scale bar=30 μ m)

A-D, Cysts and vegetative cells of *C. antiqua*.

A: Cyst of *C. antiqua* (indicated by an arrow). Six empty cysts are also observed.

B: Cultured vegetative cells after the germination from the cyst shown in A.

C: A single cyst adhered to solid surface.

D: Cultured vegetative cells after the germination from the cyst shown in C.

E-H, Cysts and vegetative cells of *Chattonella marina*.

E: A cyst adhered to a fragment of diatom frustule.

F: Cultured vegetative cells after the germination from the cyst shown in E.

G: A cyst adhered to a fragment of diatom frustule.

H: Cultured vegetative cells after the germination from the cyst shown in G.

3)。シストの大部分 (79%) は固体表面に付着した状態で観察され、とくに珪藻の被殻に 56%、砂粒に 17% の割合で付着していた。遊離状態であったシストも時折認められたが、半球形をしているものも多く、このことは試料の超音波処理や洗浄中に基質から剥がれたことを示唆している。ほぼ球形の形態をしたシストも時々観察された。

砂粒に付着しているシストが存在していたが、これは、基質へのシストの付着が海底到達後に起こることを示すと思われる。シストが他の粒子に付着した場合、見かけ上サイズが大きくなるので、他生物による捕食圧が単独で遊離している場合より小さくなると考えられる。また、重いものに付着した時は、赤潮の発生する水域内にシストが保存され易いと予想される。

青色励起光を当てて倒立落射蛍光顕微鏡で生シストを観察した場合、シストの中に、葉緑体と判断される鮮やかな赤色蛍光を発する粒子が存在した (Fig. 24)。Yentschら (1980) によると、発芽の近い *Gonyaulax excavata* のシストも同様に葉緑素による赤色蛍光を発するという。さらに、

Table 3. Proportion of adhered and free cysts of *Chattonella* and list of substrata for adherence. Total number of cysts examined is 247.

	Percentage (%)
Adhered cysts	79
Substrata	
Diatom frustule	56
Centric diatom	(45)
Pennate diatom	(11)
Sand grain	17
Others ^{a)}	6
Free cysts	21

^{a)} Thin membranous material, pine pollen, foraminifera shell, etc.

Anderson & Keafer (1985) は、このような赤色蛍光が *G. tamarensis* のシストの発芽が差し迫っていることの指標に使えると報告している。

1986年8月下旬に St. S-35 から採泥を行い、表層泥(1cm 深まで)を 22°C の暗条件下に約半年間保存した後、青色励起光下で *Chattonella* の

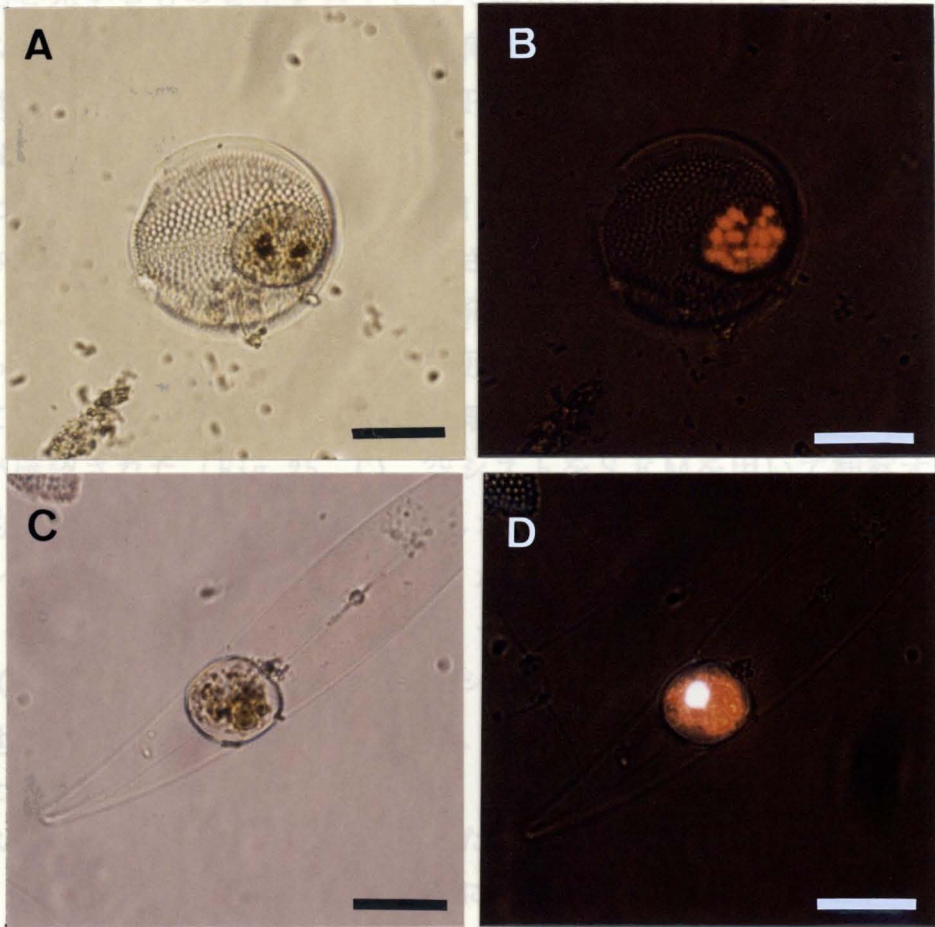


Fig.24. Normal light and epifluorescence micrographs of cysts of *Chattonella*. (Scale bar=30 μ m)

- A: A cyst observed under normal light.
- B: The same cyst as in A, observed under blue-light excitation. Red auto-fluorescence of chloroplasts is visible.
- C: A cyst observed under normal light, after fixation with glutaraldehyde and staining with DAPI.
- D: The same cyst as in C, observed under ultraviolet excitation. Blue white fluorescence of nucleus (diameter of about 8 μ m) is visible.

シストを観察した。その結果、このような処理を施した海底泥試料中のシスト（自発的休眠の状態にあってそのままでは発芽しない）も、葉緑体による赤色蛍光を発することが判明した。したがって、Chattonella の場合、赤色蛍光の有無によって成熟シストと自発的休眠中のシストの区別はできない。しかしながら、この方法によって、青色励起光下で葉緑体による赤色蛍光を発するものを生シストとして検出することができ、海底泥試料中のシストを直接計数するのに極めて有効であることがわかった。

Chattonella のシストの核を D A P I で染色して観察した例を Fig. 24, C, D に示す。核の径は約 7-10 μ m であった。栄養細胞の核は兩種共 10 μ m 以下と報告されている（原・千原, 1982）。栄養細胞とシストは、細胞の大きさが著しく異なるが、核の大きさはそれほど差異がないといえる。

Fig. 25, B に示したように、将来発芽する時に発芽孔になるであろうと考えられる構造が、シストの外壁付近にしばしば認められた。シストを培養して発芽させた後に空シストを詳細に観察した結果、円形の開口部と開口蓋が確認された（Fig. 25, C）。空シストを SEM を用いて観察すると、直径約 7 μ m の円形の開口部が存在した（Fig. 25, D）。

空シストの SEM 像（Fig. 25, D）からシストの膜の厚さを測定したところ、約 1 μ m 以下であった。また、セルロース質を褐色に染める今村・福代（1987）の染色液を用いて空のシストを染めてみたが、染色されなかった。Chattonella のシストの膜には、セルロース質は殆ど含まれていないものと考えられる。

シストの発芽過程を模式的に表した図を Fig. 26 に示す。これまでの研究で、シストの発芽を 1 回だけ幸運にも観察することができた。観察中にシストは突然発芽を開始し、Fig. 25, B の“発芽孔”を単純に通過して数秒間で発芽を終えた。発芽直後の栄養細胞は、色調と大きさがシストとよく似ており、すぐに遊泳することができた。

本研究によって Chattonella のシストの形態が明らかとなった。ラフィド藻の仲間では、これまでにシストが報じられているものは、Gonyostomum semen (Drouet & Cohen, 1935)、Vacuolaria virescens (Spencer, 1971)、Fibrocapsa japonica (吉松, 1987) 等である。Olisthodiscus luteus

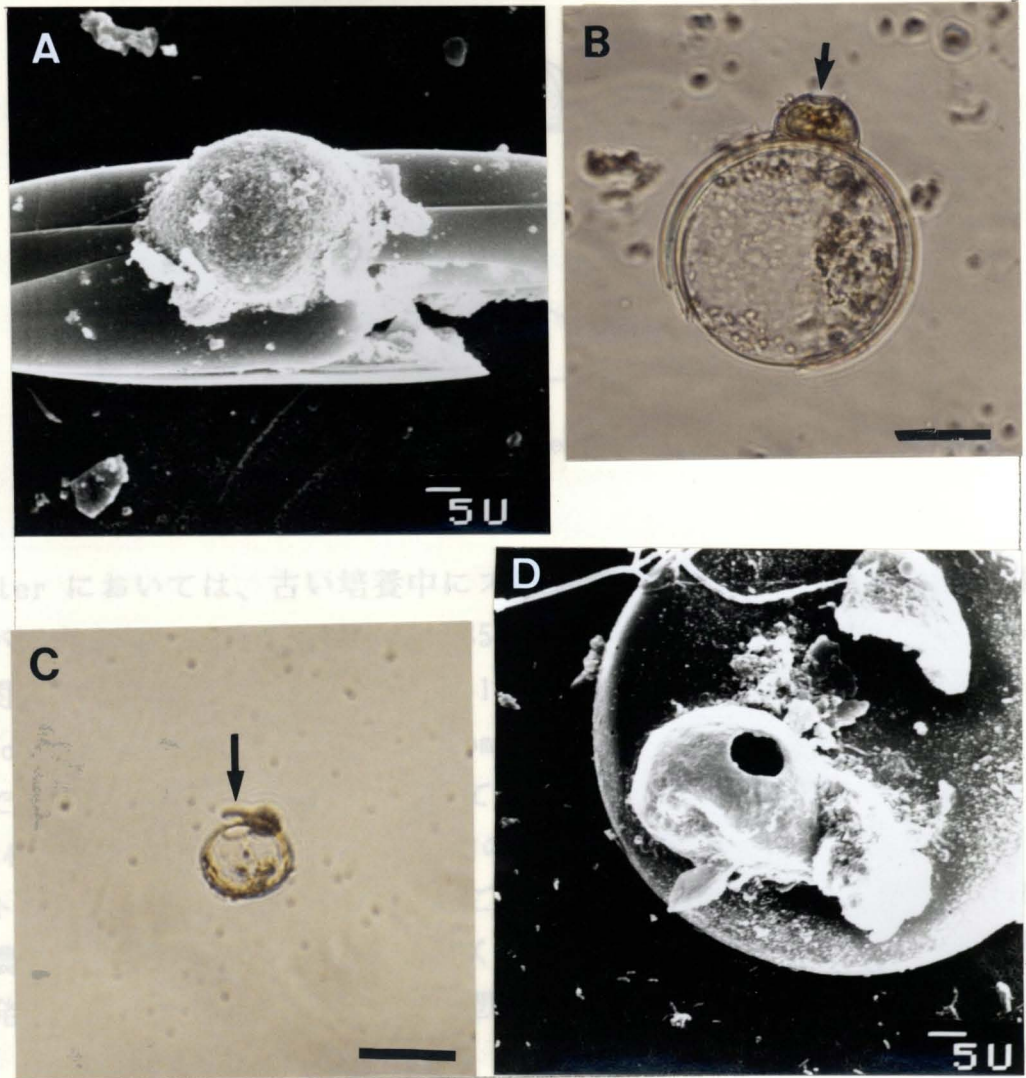


Fig.25. Scanning electron micrographs and light micrographs of cysts of *Chattonella*.

- A: Scanning electron micrograph of a cyst adhered to pennate diatom frustule.
- B: Light micrograph of the lateral view of a cyst adhered to centric diatom frustule. A particular structure for germination is indicated by an arrow. (Scale bar=30 μ m)
- C: Light micrograph of an empty cyst after the germination. An opening and a lid (indicated by an arrow) are visible. (Scale bar=30 μ m)
- D: Scanning electron micrograph of an empty cyst adhered to centric diatom frustule. A circular opening with diameter of about 7 μ m is visible.

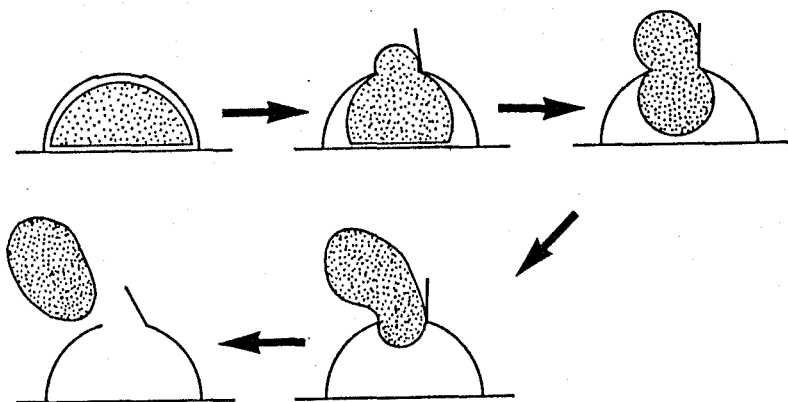


Fig.26. Schematic representation of the germination process in cysts of Chattonella.

Carter においては、古い培養中にスタト胞子のような比較的膜の厚い細胞が観察されている (Haraら, 1985)。また Heterosigma akashiwo Hada に関しても、低温暗条件下 (5 と 10°C) で最低 15 週間生存できる benthic stage cells が形成され (Tomas, 1978)、大阪湾の海底泥を培養液中で培養すると栄養細胞が出現してくることも確認されている (Yamochi, 1984)。ラフィド藻類に属する生物のかなりの種は、その生活史の中でシスト等の耐久性を持った時期を過ごしているようである。とくに海産の種は濃密な赤潮を形成するものが多く、このような生活史を持つことは赤潮の発生に大変好都合に働くものと想像される。

第2節 培養によって形成させたシストについて

渦鞭毛藻類に関しては、有性生殖過程やシスト形成の研究が比較的進んでおり (Dale, 1983; Walker, 1984)、現在、海産 58 種と淡水産 17 種についてシストの存在が知られている (福代, 1987)。また実験室内で培養条件をいろいろと変化させて、人為的にシストの形成が試みられ、幾つかの種で成功している (von Stosch, 1973; Pfiester, 1975, 1976, 1977, 1984; Turpinら, 1978; Walker & Steidinger, 1979; Pfiester & Skvarla, 1979; 渡辺ら, 1982; Coatsら, 1984; Andersonら, 1984, 1985a; Sakoら, 1984, 1986, 1987; Pfiester & Anderson, 1987; 等)。

Chattonella の属するラフィド藻の仲間は生活史の不明なものが多い (Heywood, 1980)。前節において、瀬戸内海の海底泥から Chattonella のシストを発見し、その形態を記述した。しかしながら、培養条件下でのシストの形成はこれまで報告が無く、それゆえシストの形成に対してどのような要因が作用しているのか全く不明であった。

Chattonella のシストは、現場海底泥の中で固体表面に付着しているものが多かった (Table 3)。またその付着は、海底へ沈降・到達後に起こっているであろうことを示唆した。そこで、Chattonella のシスト形成に関して以下のような推論を行った。

夏季に海水中で増殖した栄養細胞は、増殖の後期に表層水中で栄養の枯渇を経験し、これがシスト形成の引き金となるであろう。このような栄養細胞は海底へと沈降して行き、海底到達後に固体表面へと付着してシストを形成する。従って、海底においては低い照度の光条件を経験するものと推定した。

多くの微細藻類は、有性生殖を通じて耐久型の休眠細胞を形成しており、この有性生殖を誘起する要因として光、温度、栄養環境等が複雑に作用している (市村, 1979)。Chattonella については、シスト形成が有性生殖の結果か否かは明らかでないが、通常の培養条件下ではシスト形成は観察されたことが無く、やはり種々の要因が作用しているものと想定される。

本実験では、現場において起こるであろう環境条件を設定し、培養を行った。その結果、天然のシストと同様の形態を持つシストの形成に成功した。本節では、培養条件下で人為的に形成させたシストについて、検討して得られた結果を述べる。

材料および方法

1. 実験条件

シスト形成のための培養液としては、SWM-3 改変培地から硝酸塩を除き、その代わりに窒素源としてアンモニウム塩を 25 μ M あるいは 50 μ M の濃度で加えたもの (Table 4) を用いた。なお、シスト付着のための基質としてガラスビーズを使用した。

Table 4. Composition of the medium for cyst formation of *Chattonella marina* in culture.

NH ₄ Cl	25	μ M
NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	0.1	mM
Na ₂ SiO ₃	0.2	mM
FeCl ₃	2.0	μ M
Na ₂ EDTA	30	μ M
TRIS	500	mg
P-I metals ^{a)}	10	ml
S-3 vitamins mixture ^{b)}	2	ml
Seawater (filtered)	up to 1,000	ml
pH	7.8	

^{a)} P-I metals (in 10 ml): 1 mmol H₃BO₃,
35 μ mol MnCl₂·4H₂O, 4 μ mol ZnCl₂,
0.1 μ mol CoCl₂·6H₂O, 1 nmol CuCl₂·2H₂O

^{b)} S-3 vitamins mixture (in 2 ml): 0.5 mg B₁-HCl,
0.1 mg Ca-Pantothenate, 0.1 mg Nicotinic acid,
10 μ g p-Aminobenzoic acid, 1 μ g Biotin, 5 mg
Inositol, 2 μ g Folic acid, 3 mg Thymine, 1 μ g
Vitamin B₁₂

Chattonella marina においては、クローン株 1 株 (MS-3) と、シストから発芽して出て来た栄養細胞を培養した 5 株 (S-11, S-12, S-13, HBF-1, HBG-12) の計 6 株を実験に用いた。C. antiqua についてはクローン株 2 株 (AH-5, OA-9) およびシストの発芽後の栄養細胞から培養した 3 株 (HBE-12, HBG-8, HBG-11) を実験に用いた。

各株を通常の SWM-3 改変培地中で、温度 25°C、照度約 8,000lx、明暗周期 14hL-10hD の条件下で充分増殖させた。50ml 容三角フラスコ中のシスト形成用培地 (25ml) に、良く増殖した各株の培養を約 125 μ l ずつ植え、同じ条件下で 9-10 日間培養した。その後アルミホイルで培養容器を包んで、同一温度の暗黒条件下に置いた。暗黒にして 10-21 日後に倒立落射蛍光顕微鏡を用いて観察を行い、ガラスピース上に形成されたシストの有無を調べた。その結果、C. marina では S-11 株とクローン株の MS-3 株で、C. antiqua でも HBG-8 株とクローン株の AH-5 株の培養実験において、天然のシストと形態の酷似したものがガラスピース上に付着しているのが確認された。これらは、固定液 (glutaraldehyde) を作用させても破壊されないしっかりした膜をもっており、11°C の低温暗条件下で 6 ヶ月間保存した後も形態を保持し、しかも青色励起光下で観察すると葉緑体による鮮やかな赤色の自家蛍光を発した。最も高頻度で "シスト" の確認されたものは C. marina の S-11 株 (Fig. 27, A) であったので、本研究においては以後の実験にこの株を用いることにした。

2. シスト形成に与える光条件の影響

充分増殖させた C. marina S-11 株をシスト形成培地に同様にして植え、温度 25°C、照度約 10,000lx、14hL-10hD 明暗周期の条件下で 8 日間培養した。付着基質のガラスピースは各フラスコに 2.5g ずつあらかじめ添加しておいた。その後、フィルターガラスを用いて照度を元の 10% (約 1,000lx)、5% (約 500lx)、1% (約 100lx)、0.5% (約 50lx) に光条件を落としたもの、およびそのまま (約 10,000lx) とアルミホイルで包んで暗黒にしたものを調製して培養実験を行った。各照度の光条件について 2 本の培養を実施した。各光条件に置いて 20-23 日目に、各フラスコか

らガラスビーズを約 20 μ l 取り出し、その中に形成され付着しているシストの数を倒立落射蛍光顕微鏡で計数した。培養 23 日目に培養液を捨てて、かわりに濾過海水を補充し、温度 11°C の暗黒条件下に移した（休眠解除のため）。

各照度の光条件下で形成させたシストを低温暗条件に置いて約 4 ヶ月以上経過後、シストの形態観察および発芽のための培養（22°C, 3,500lx, 14hL-10hD）を実施した。

結果および考察

まず一定条件下で *C. antiqua* と *C. marina* のクローン培養を行いシストと推定されるものを観察した。シスト形成は有性生殖の結果か否かは現時点では不明であるが、もし有性生殖を行うにしてもホモタリックであると推定される。また、株によって“シスト”を形成し易いものと形成しにくいものがあるようである。このように形成した“シスト”は、4 ヶ月以上低温（11°C）暗条件下に置いた後に培養を行っても発芽しなかった。

C. marina S-11 株（Fig. 27, A）をシスト形成用培地中で培養すると、数日後には Fig. 27, B, C に示したような小型の細胞が出現した。長径は約 30 μ m あるいはそれ以下、色調は通常の栄養細胞と異なりシストと似たような薄い色で、細胞によっては内部に褐色の斑点のようなものが認められた。大きさと色調等の特徴から考えるならば、この小型の細胞がシスト形成と深くかかわっていると想像される。有性生殖の有無も含めて、このような点を明らかにすることは今後に残された大きな課題である。

シスト形成用培地で数日間培養した栄養細胞は、小型の細胞も含めて暗黒条件下（温度 25°C）に置いた後 20 日間以上も生存し、遊泳していた。通常の栄養細胞では考えられない現象であり、配偶子である可能性など考えると大変興味深い。同様のことは *C. antiqua* においても観察された。

吉松・結城（1979）は、1978 年夏季に播磨灘で *Chattonella* (*C. antiqua*) による赤潮が発生した際、香川県鶴羽養殖場で 7 月 29 日に、通常の細胞に混じって細胞長 30 μ m 以下の極小型細胞が数多く（2,650 細

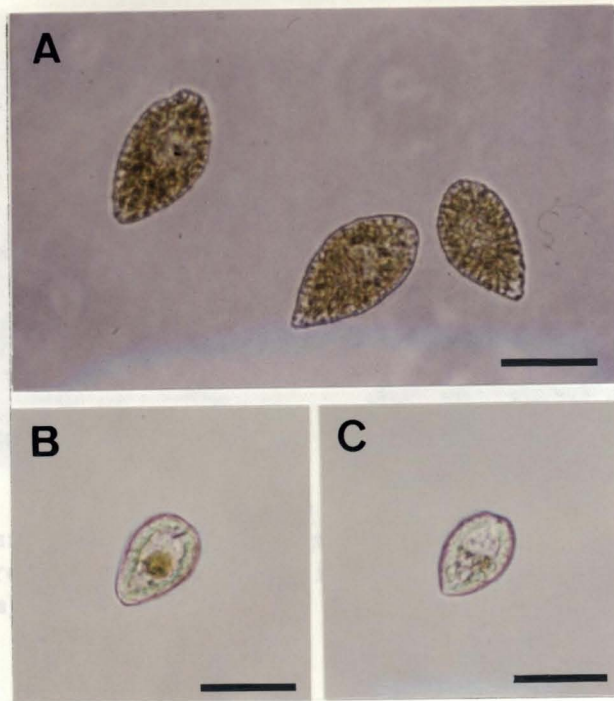


Fig.27. Microphotographs of *Chattonella marina*. (Scale bar=30 μ m)

A: Common vegetative cells.

B,C: Small cell appeared after cultivation of 10 days in the medium for cyst formation.

胞 / mlの約6割) 観察されたと報じている。この極小型細胞は色素体を少数しか持たず、全般に透明な感じがしたといい、本研究で認められた小型細胞と似ているような印象を受け、興味深い。

Fig. 28 に培養条件下で形成された *C. marina* のシストの例を写真で示す。Fig. 28, A は径約 28 μ m、B は約 25 μ m である。本章第1節で述べた天然のシストと極めて良く似た形態をしており、ガラスビーズへの付着面と反対側の頂端部付近には発芽のための構造と思われるものも存在している。しかし天然のシストに比べて全般にややサイズが小さく、約 20-30 μ m の径のものが多かった。

シスト形成に与える光条件の影響を Table 5 に示した。約 10,000lx の培養条件下ではシスト形成は認められなかった。約 1,000lx 以下に置いた場合、シスト形成が起こった。暗条件に移した時点の栄養細胞密度と、

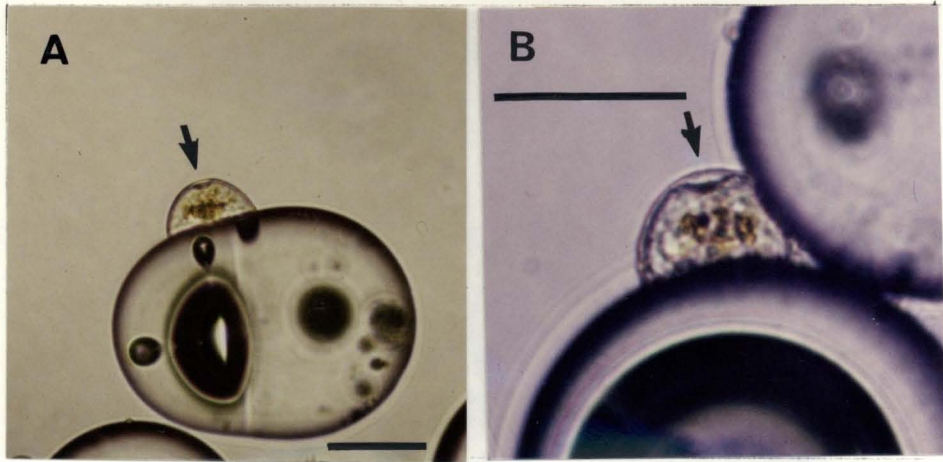


Fig.28. Cysts of Chattonella marina in culture. Formed cysts are adhered to the surface of glass beads. A structure for germination is indicated by an arrow. (Scale bar=30 μ m)

後にガラスビーズ上に形成されたシストの数からシストの形成率を計算すると、0.3-7.0% (1個の細胞から1個のシストが作られたと仮定) となった (Table 5)。なお、シスト形成培地に C. marina を接種してその日の

Table 5. Effects of light intensity on cyst formation of Chattonella marina in culture.

Light intensity (lx)	Number of formed cysts in 20 μ l glass beads, and percentage of cyst formation (parentheses) flasks	
	A	B
10,000	0 (0)	0 (0)
1,000	13 (1.3)	15 (1.3)
500	18 (1.7)	15 (1.5)
100	16 (1.1)	4 (0.3)
50	23 (2.1)	53 (7.0)
0	29 (3.9)	35 (3.4)

るのが観察さ
シストの中に
察を続けてい
して後、大き
率が大変低く

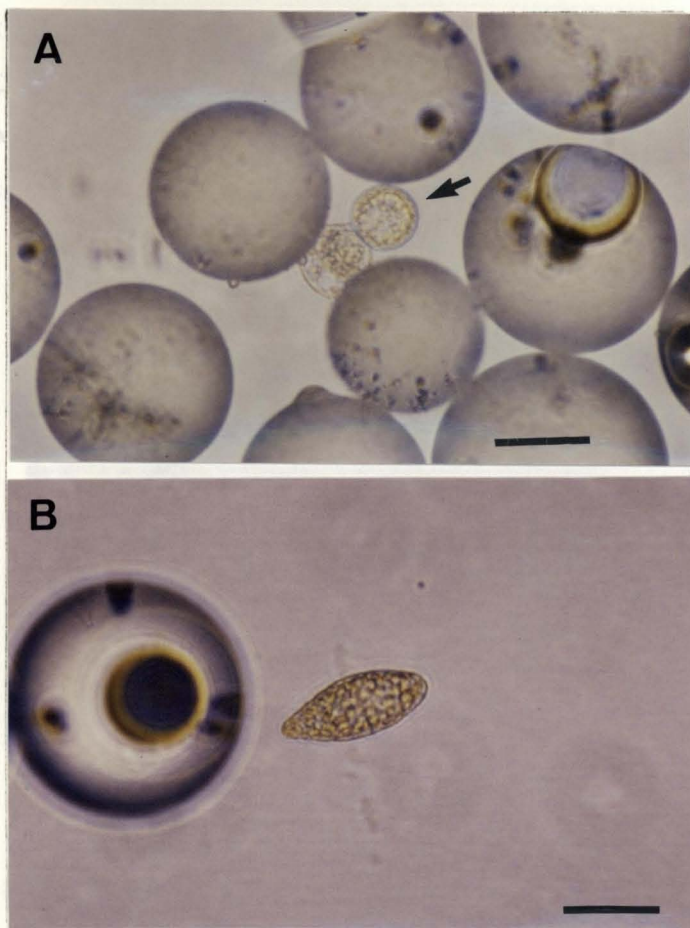


Fig.29. Germination of cysts formed in culture. (Scale bar=30 μ m)

A: A germinating cell (indicated by an arrow) from the cyst adhered to glass beads. Posterior part of this cell remained in the cyst.

B: Enlarged cell after the germination.

うちに暗条件下に置いた場合にはシスト形成は起こらなかった。

形成されたシストを温度 11 $^{\circ}$ C の低温暗条件下に 4-6 ケ月間置き、自発的休眠を解除させた後に発芽試験を行った。ガラスビーズをバイアルや組織培養用フラスコ (容積約 30ml) に収容して、多数のシストを濾過海水中で培養した時、Fig. 29 に示したようなシストの発芽が観察された。

Fig. 29, A は、シストから発芽しつつある細胞である。天然のシストの場合と同様に色調は薄く、サイズもシストに近かった。遊泳鞭毛が動いてい

るのが観察され、細胞自身もゆらゆらと動いていた。この細胞は後端部がシストの中に残ったままで、発芽孔から完全に抜け出すことができず、観察を続けていると後に破裂してしまった。Fig. 29, B は、シストから発芽した後、大きくなった栄養細胞である。人為的に形成させたシストは発芽率が大変低く、発芽が確認されたのは僅か4例だけであった。すなわち、

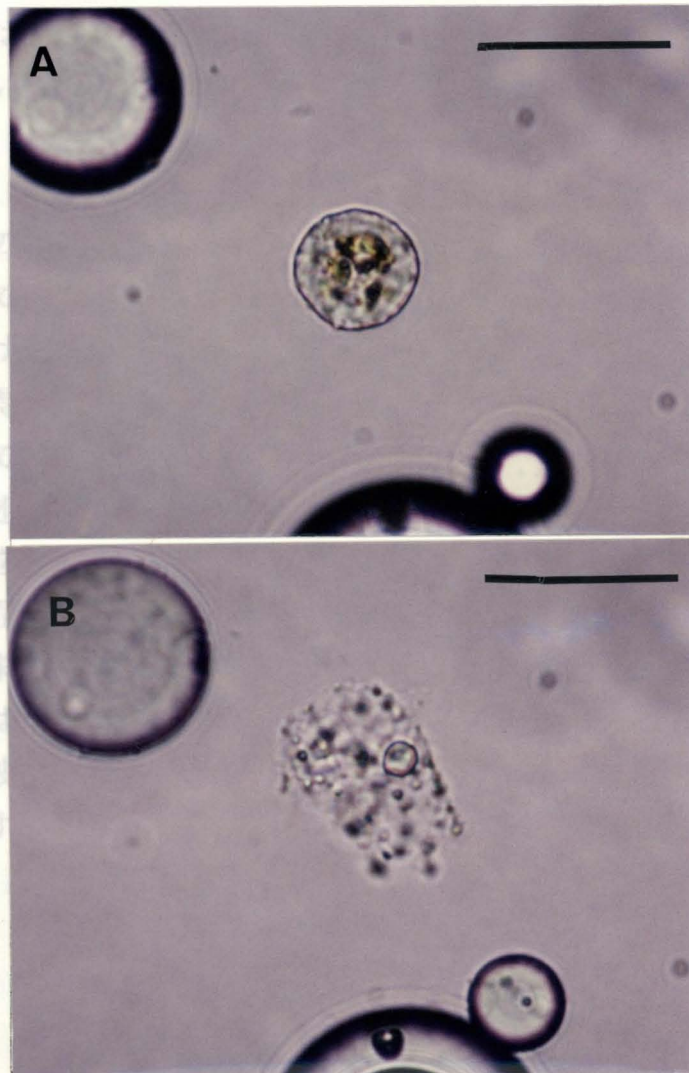


Fig.30. Microphotographs of spherical cell. (Scale bar=30 μ m)
A: A spherical cell survived for about 5 months at 11°C in darkness.
B: The same cell as in A, bursted during the microscopical observation.

約 501x の光条件下で形成されたものが 3 例、暗黒下でのものが 1 例であった。より高率に発芽できるシストを形成させることが、今後の課題として残された。

人為的な培養条件下でシスト形成を行わせた時、Fig. 30, A のような球形の細胞が時々認められた。この細胞は色調と濃褐色の斑点の存在がシストと良く似ている。またこの球形細胞は、暗黒の低温 (11°C) 条件下でも最低 4 ヶ月間は形態を保持し、細胞内の葉緑体も維持された。しかしシストのような強い膜を持っておらず、顕微鏡下で観察中に簡単に崩壊してしまう (Fig. 30, B)。さらに、この球形細胞 20 個を SWM-3 改変培地で培養し、また 31 個を濾過海水で培養したがいずれも増殖しなかった。このような球形の細胞は人工的な産物であるのか、あるいは天然にも存在するのかについては現在不明である。いずれにしても、このように弱い膜しか持っていなければ機械的な破損にも弱いと想像され、耐久細胞としての役割は果たし得ないものと考えられる。

本節においては、培養条件下での C. marina のシスト形成に初めて成功した結果を述べた。その形成には少なくとも窒素欠乏と低照度条件が必要であることを示した。これらの成果をもとにして、現場海域におけるシスト形成の過程を推定すると次のようである。表層水中で増殖した Chattonella は、栄養の枯渇（とくに窒素）に遭遇した後、海底へと沈降して行き、海底では低照度（埋まれば暗黒）を経験し、さらにはそこに多く存在する珪藻の被殻や砂粒等の固体粒子の表面に付着することにより、シスト形成が進行する。

第4章 周防灘における Chattonella の発生状況とシストの挙動

赤潮生物が、赤潮を形成するに至るまでにはいくつかの段階的過程を経ており、この間の過程を把握することは赤潮の発生機構を理解する上で重要な鍵となる (Steidinger, 1975; Steidinger & Haddad, 1981; 辻田, 1984; 渡辺, 1986, 1988; 池田・中田, 1987; Paerl, 1988)。とくに、シストを形成する赤潮生物においては、シストの発芽が赤潮発生の初期段階として重要である。このような観点から見た場合、Chattonella による赤潮に関しては、シストの発芽、栄養細胞の増殖、集積といった各段階を、環境との関連で解析していく必要がある。

しかしながら、今日まで、現場海域においてシストが Chattonella 赤潮の発生に対してどのように関与しているのかについては全く研究がなく、また、他の赤潮発生に関してもシストの役割を明確に解析した研究は極めて少ないのが実状である (安楽, 1987)。

上記のような観点から、周防灘を調査対象水域として設定し、1984年春から1988年春まで現場調査を実施した。この間に規模の大小はあったが、Table 6 に示すように、赤潮生物として Chattonella が卓越した年と渦鞭毛藻 Gymnodinium nagasakiense Takayama et Adachi (Takayama & Adachi, 1984) が優勢であった年が認められた。本章においては、第1節で周防灘のシストの分布を調べ、第2節で夏季の現場調査を実施し、シストの挙動と栄養細胞の出現状況を検討した。Chattonella の卓越した年とそうでない年 (Table 6) との環境条件の相違を比較し、Chattonella のシストの生理生態的特徴等を勘案して、周防灘における Chattonella 赤潮の発生機構に関する考察を第3節で行った。

第1節 シストの分布

水域における Chattonella のシストの分布状況を定量的に把握し、夏の赤潮発生の季節に発芽して出てきた栄養細胞の増殖や集積等の過程を追跡できれば、発生機構の解明に大きな貢献が期待できるであろう。

本節では、終点希釈法および落射蛍光顕微鏡による直接検鏡法を用いて、周防灘全域の海底泥中のシストを計数し、地理的な分布状態を調べた。また、シストの鉛直的分布や、存在密度の季節的な変化についても検討した。

材料および方法

1. シストの地理的分布

周防灘における調査定点を Fig. 31 に示した。1984 年 4 月 16-18 日には Fig. 31 上段に示した 20 定点から、KK 式柱状採泥器を用いて海底泥を採取した。表面から 3cm 深までをプラスチック容器に取り、11°C の小型低温恒温庫中に収容して実験室にもち帰った。採泥時の底層の水温（海底上 1m 層）は 9.2-13.1°C であり、試料は以後 11°C の低温恒温庫中に暗所保存した。

1985 年以降は Fig. 31 下段の 29 定点におけるシストの分布を調べた。1985 年は 4 月 13-15 日に、1986 年は 3 月 16-18 日に、1987 年は 6 月 24-27 日に、KK 式柱状採泥器を用いて採泥を行い、表面から 3cm 深までを試料として採取した。1985 年の試料は、海面下 2m の海水を常時流している容器中に入れて、温度を 11-12.5°C に維持してもち帰った。翌 1986 年と 1987 年の海底泥試料は、11°C の低温恒温水槽中に保存して実験室にもち帰った。

シストの計数には、1984 年と 1985 年の試料では第 2 章で述べた終点希釈法を用いた。1986 年と 1987 年の試料は、倒立落射蛍光顕微鏡を使用した直接検鏡法で計数を行った（後述）。したがって、終点希釈法による計数値は本法によって発芽するシストの数を示し、直接検鏡法による計

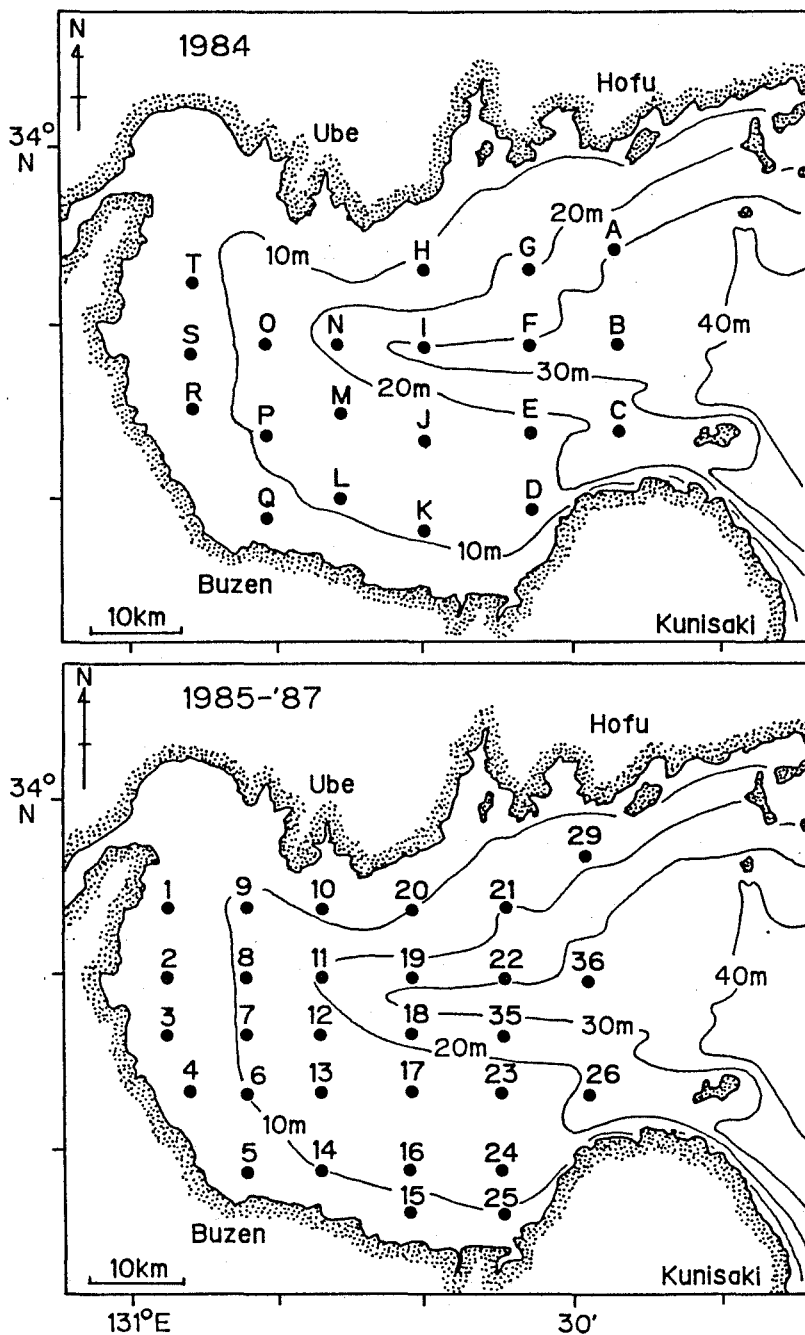


Fig.31. Location of the sampling stations in Suo-Nada, western Seto Inland Sea.

Upper: Sts.A ~ T

Lower: Sts.S-1 ~ S-36

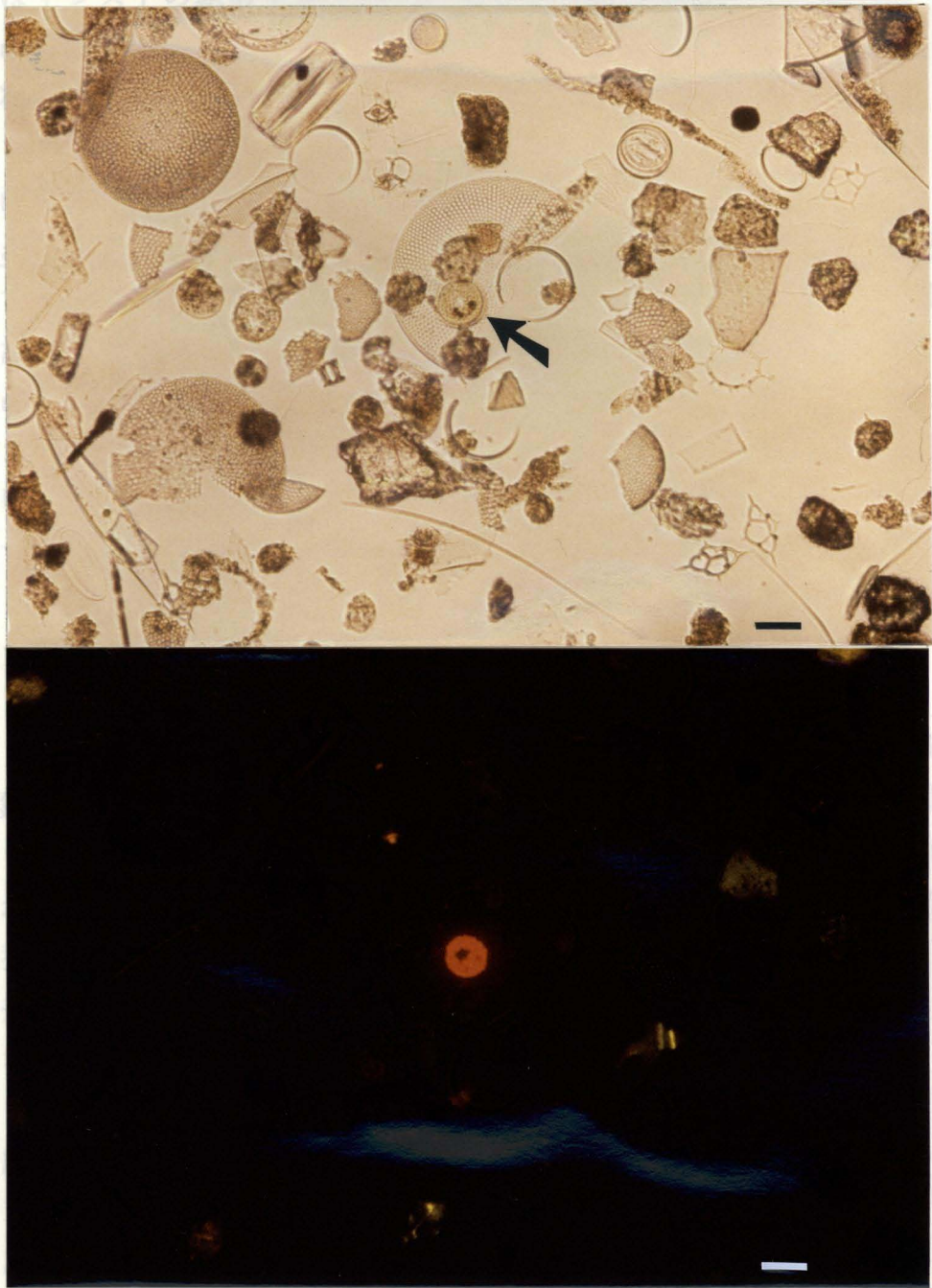


Fig.32. Normal light (upper) and epifluorescence (lower) micrographs of size-fractionated (20-100 μ m) sediment sample. A cyst of Chattonella in upper photograph is indicated by an arrow. Red auto-fluorescence of the cyst is visible in lower photograph. (Scale bar=30 μ m)

数値は生シストの総数を示すことになる。いずれの場合も、試料の 20-100 μm の粒子径画分を計数に用いた。水平的なシストの分布密度は、海底泥試料の見かけの比重を求め、湿泥 1 cm^3 当たりの値として表した。

2. 直接検鏡法によるシストの計数

Chattonella のシストは第3章第1節において述べたように、青色励起光下で葉緑体に由来する赤色蛍光を発する。この特徴が、生シストを直接検鏡法で計数する際の重要な目安である。Fig. 32 に、海底泥試料 (20-100 μm の粒子径画分) 中の Chattonella のシストを、通常の顕微鏡で観察した場合と落射蛍光顕微鏡で観察した場合の比較の写真を示す。写真からも明らかなように、落射蛍光顕微鏡を用いて赤色蛍光を発するシストを検出する方が、はるかに容易であることがわかる。赤色蛍光を目安としてシストを検出した後、通常光で観察して形態を確認すればシストの直接計数ができる。

1986年3月の7定点の海底泥試料を用いて、終点希釈法と直接検鏡法による計数値の比較を行った (Fig. 33)。直接検鏡法によって得られる計数値の方が常に大きかったが、両者の間には明瞭な相関関係が認められた。終点希釈法は培養を基本としているため、発芽した栄養細胞が死亡したり、シストの発芽孔が他の粒子や培養容器によって押さえられて発芽が抑制されたりすれば、計数値は低くなると想像される。

Figs. 32 と 33 に示された結果から、直接検鏡法でシストの存在密度が把握できることがわかった。また、終点希釈法による計数値も、若干低いながら、周防灘のシストの分布傾向を反映していることも確認された。

次に、柱状採泥器を用いて得られた海底泥中のシストの存在密度が、コアによって異なるのかという点についても検討した。1988年3月23日に St. S-35 から採泥し、4本のコアの表面から 3cm 深ま

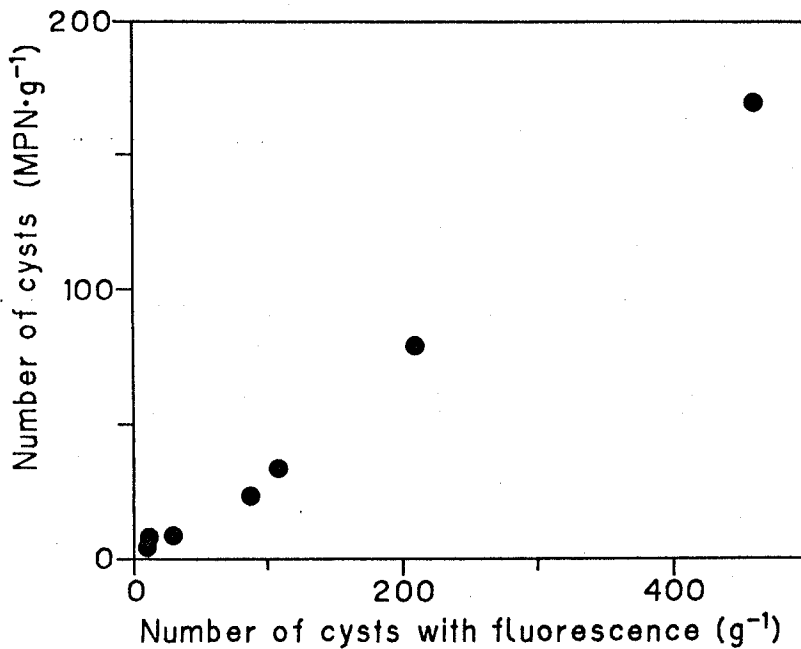


Fig.33. Number of cysts of *Chattonella* enumerated by the extinction dilution method and direct count method. Sediment samples were collected from Suo-Nada, in March, 1986.

でを各々別の容器に取った。試料の処理方法は Fig. 5 (第2章) で述べた終点希釈法のためのものと同じであり、その 10⁰ 懸濁液を計数に用いた。各コアの海底泥から調製した懸濁液 0.5ml 中に存在するシストの数を計数した。それを3回繰り返し、その平均値を示した。4本の各コアのシストの計数値は湿泥 1g あたり最大 867±90、最小は 600±80 であった (Fig. 34)。コア間の計数値の変動は若干認められるものの、水平的に小さいスケールでのシスト分布のパッチネスはさほど著しくないとされる。

底泥中のシストの鉛直分布も調べた。1988年3月に St. S-35 から得たコア (5本) を表面から 1cm 毎に切り、5cm 深までの各層と 9-10cm の層をプラスチック容器に採った。各深度の底泥試料中のシストの数を、直接検鏡法で各々3回ずつ計数した。

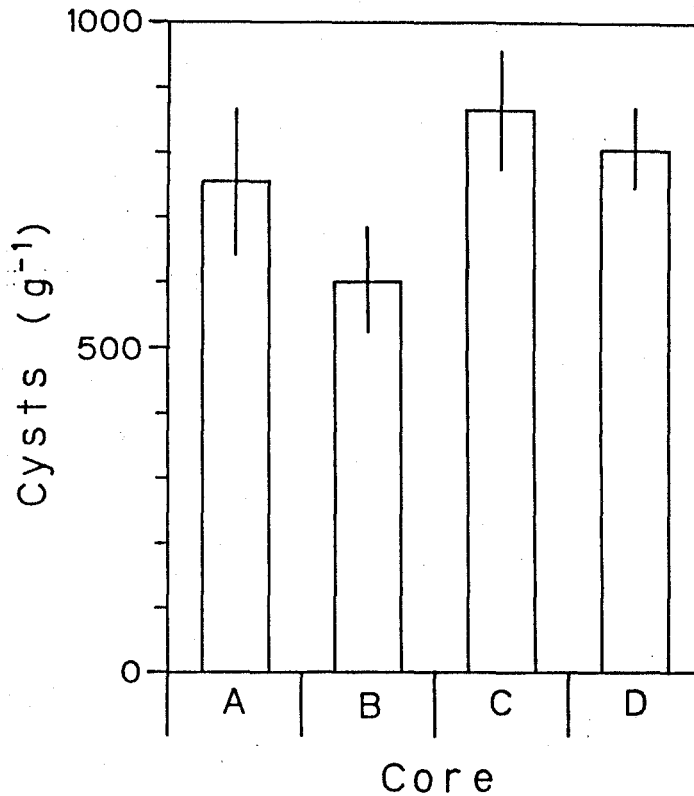


Fig.34. Variability in total number of cysts of *Chattonella* in 4 core samples. Bars represent standard deviations. Sediment samples were collected from St.S-35 in March, 1988.

3. シストの時間的な分布変化

1986年3, 8, 10月、1987年3, 6, 7, 8月、および1988年3月に、周防灘の Sts. S-2, -17, -25, -35, -36 の5定点から採泥を行い、表面から1cm深の表層泥中に存在するシストの密度の時間的な変化を、直接検鏡法によって調べた。なお、Sts. S-2 と -17 の2定点においては、1986年10月と1987年3月の試料は採取できなかった。

結果および考察

1. シストの地理的分布

1984 および 1985 年4月の周防灘における *Chattonella* のシストの分

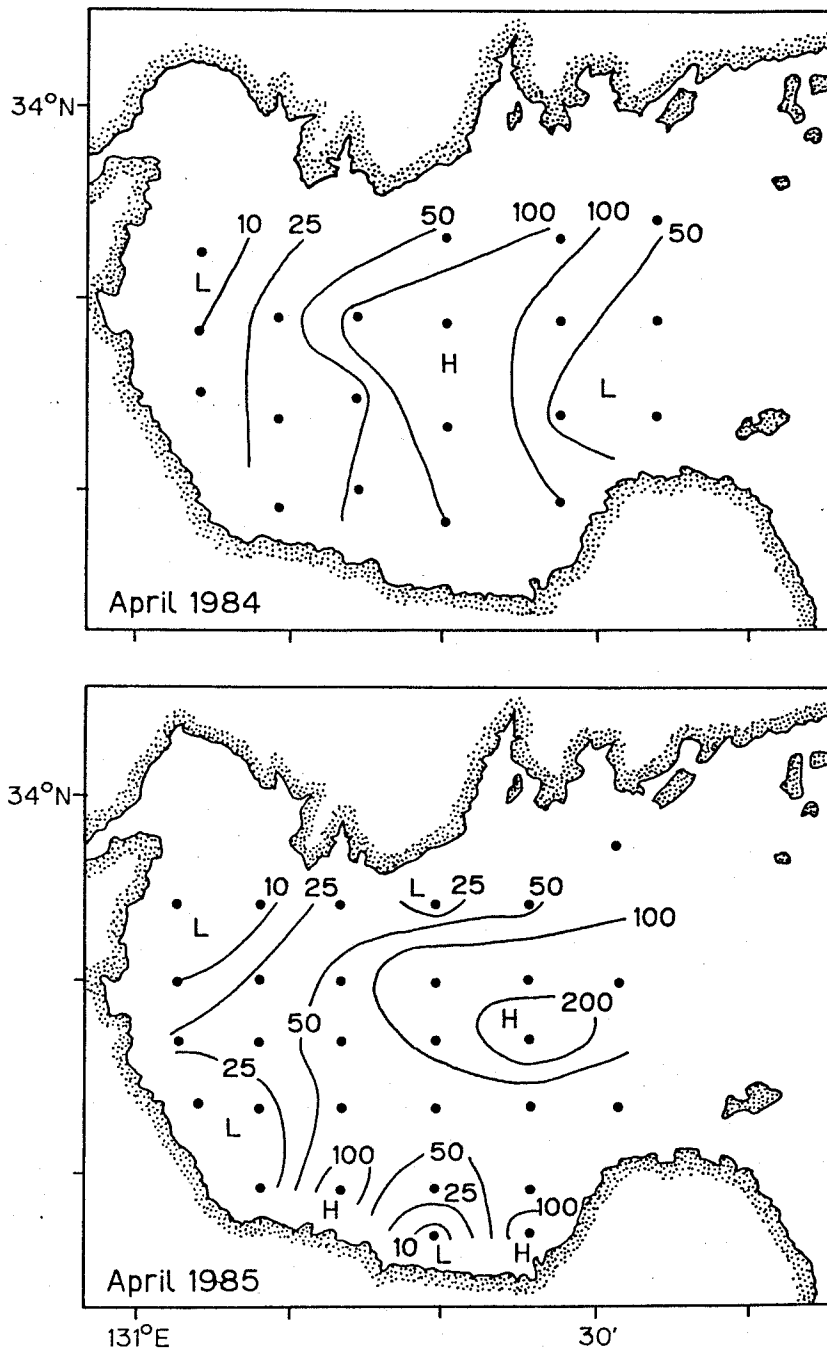


Fig.35. Distribution of cysts of *Chattonella* in Suo-Nada, enumerated by the extinction dilution method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

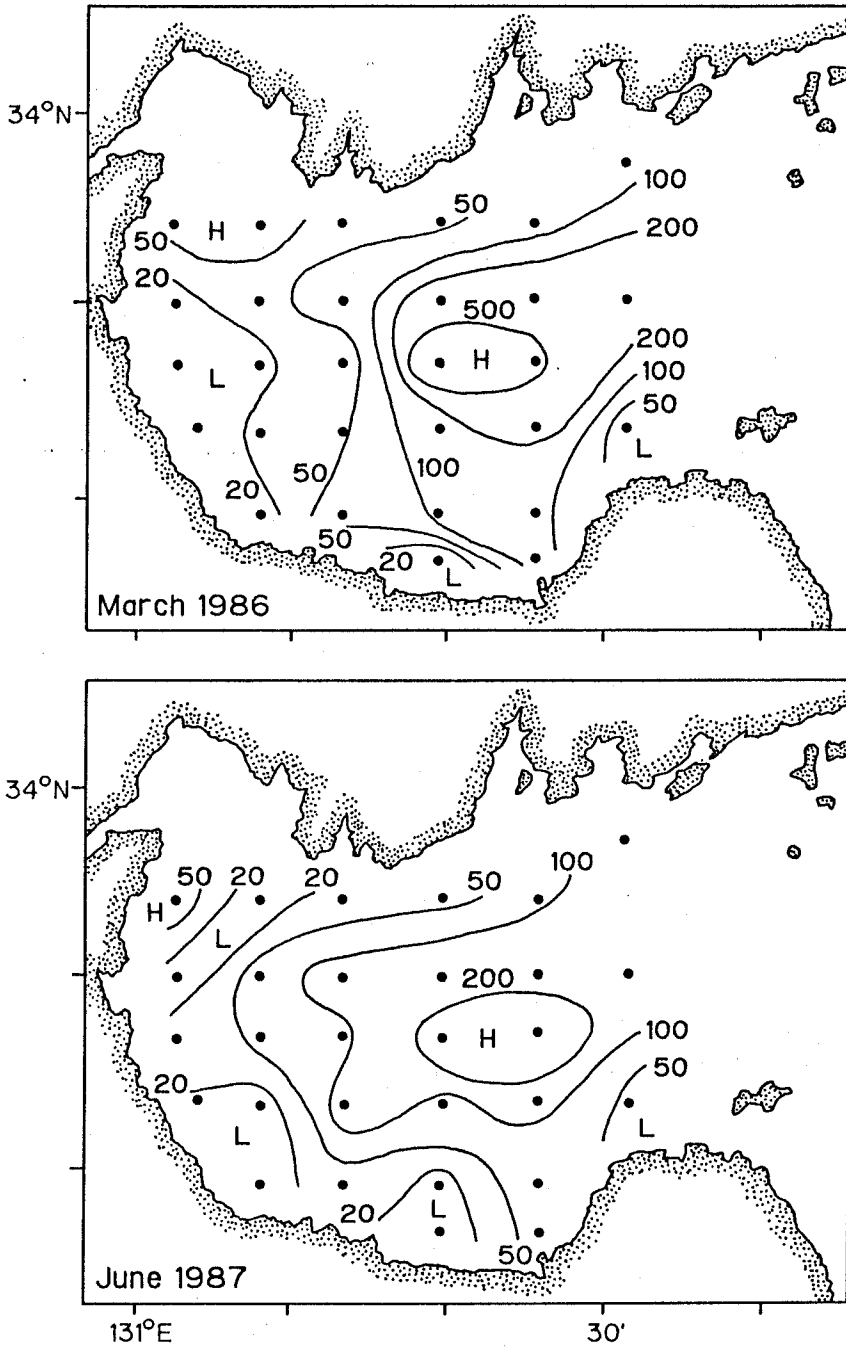


Fig.36. Distribution of cysts of *Chattonella* in Suo-Nada, enumerated by the direct count method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

布は終点希釈法によって求め、結果を Fig. 35 に示した。1986 年 3 月および 1987 年 6 月のシストの分布は直接検鏡法によって求め、結果を Fig. 36 に示した。1984 年 4 月のシストの分布密度は 3-158 個 / cm^3 (平均 63 個 / cm^3) の範囲にあり、1985 年は 3-304 個 / cm^3 (平均 67 個 / cm^3) の値であった。1986 年のシストの分布密度は 0-787 個 / cm^3 (平均 125 個 / cm^3) であり、1987 年は 0-490 個 / cm^3 (平均 91 個 / cm^3) の範囲の値を示した。1984 年から 1987 年までの 4 ケ年のシストの地理的分布パターンは、終点希釈法 (1984 と 1985 年) と直接検鏡法 (1986 と 1987 年) で測定されたにかかわらず、概ね似通っていた。すなわち、シストの分布は一様でなく、高密度域は灘の中央～東部の水深の大きい沖合域に存在する傾向があった。南部および西部沿岸の浅海域では密度が低かった。

一般的に、潮流の平均値である恒流は物質の移動や集積に大きな影響を与えるとされている (柳・樋口, 1979)。カナダ東部海岸のファンデー湾における有毒渦鞭毛藻 Gonyaulax excavata のシストの高密度域は、水深 80-160m の沖合域に形成され、環流の位置とよく一致することが報告されている (White & Lewis, 1982)。周防灘においては、伊予灘を通じて流入してきた外洋系水は周防灘の北部寄りを西進し、周防灘南西部の沿岸系水は東流して国東半島沿いに流出するとされている (柳・樋口, 1979; 気象庁, 1985)。そして、周防灘中央部には反時計回りの環流が形成されるという (気象庁, 1985)。Chattonella のシストの高密度域は灘中央～東部の沖合に認められたが、これは環流の位置と概ね合っているようであり、カナダのファンデー湾における G. excavata のシストの場合と傾向が似ている。

2. シストの存在密度の経時的変化

周防灘の 5 定点において、表層泥 (1cm 深まで) 中の生シストの総数を直接検鏡法によって計数し、存在密度の季節的变化を Fig. 37 に示した。1986 年 3 月から 1987 年 6 月までの間、著しい変動はあまり認められなかった。1987 年 7 月になると、St. S-2 において総シスト数が著しく増え

(10倍以上)、8月になると中央部の Sts. S-35, S-36 も2倍以上になった。翌 1988 年 3 月に行った調査時には、いずれの点でも総シスト数はさらに増加していた。

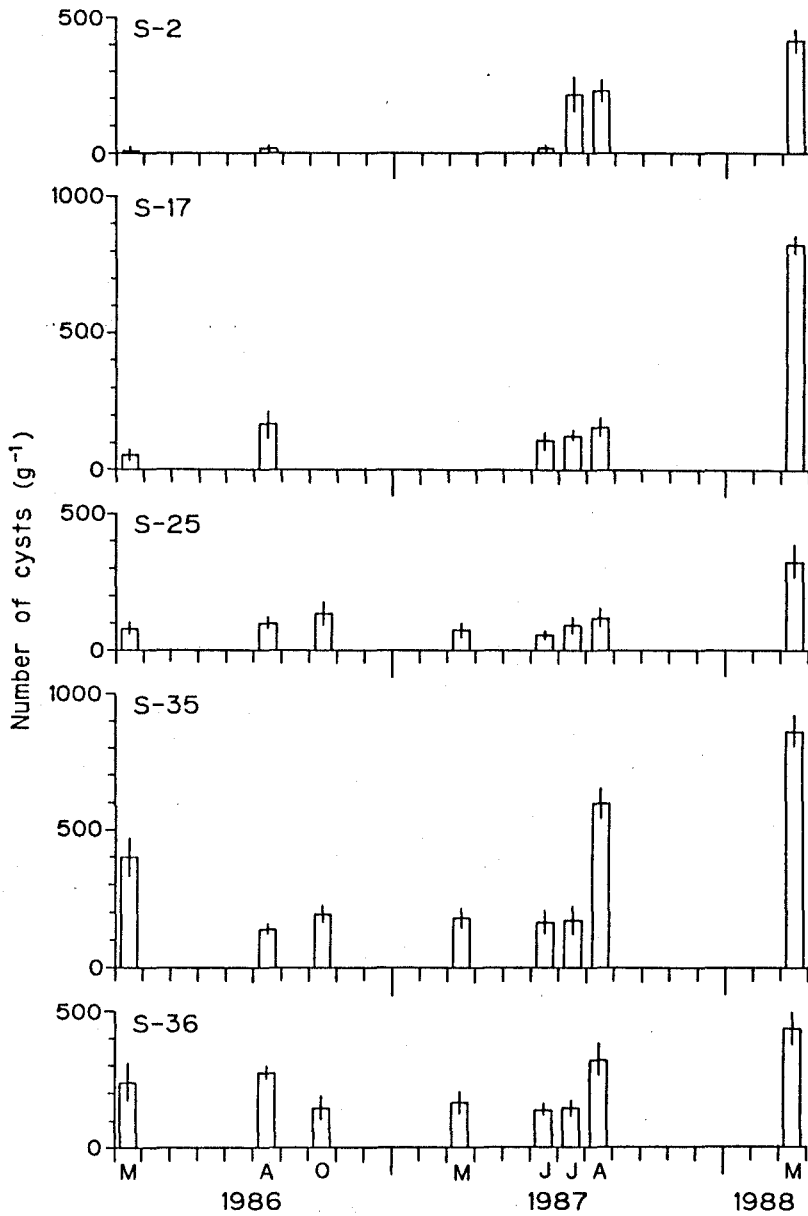


Fig.37. Seasonal changes in the total number of cysts of *Chattonella* in surface sediment (top 1-cm) at 5 stations in Suo-Nada. Bars represent standard deviations.

Table 6 に示したように、1986 年の夏季は Chattonella 赤潮は起こらず、濃縮によって辛うじて検出できるレベルの細胞密度で推移した。一方、1987 年夏季には Chattonella が多く発生し、7月中旬には 100 細胞 / ml 以上になり、このレベルは 8月上旬まで維持された。このような栄養細胞の密度から考えるならば、1987 年は 1986 年よりも格段に多くのシストが海底へ供給されていると予想され、事実生シストの総数は激増した。このように、栄養細胞の出現状況が、海底へのシストの供給と密接に関連していることが明らかとなった。

3. シストの鉛直分布

1988 年 3 月の St. S-35 における Chattonella のシストの鉛直分布を直接検鏡法によって調べ、その結果を Fig. 38 に示した。シストは表層に多く (0-1cm 層で 1,106 個 / cm^3)、3cm 深まで比較的高濃度のシスト (2-3cm 層で 632 個 / cm^3) が存在した。シストは 4-5cm 層にも 100 個 / cm^3 以上検出され、さらには 9-10cm 層でも存在が確認された。

1987 年 6 月下旬の時点で、St. S-35 における総シストの分布密度は、3 cm 深までの平均で 490 個 / cm^3 であった。1988 年 3 月になると Fig. 38 にも示されたように、3cm 深までの総シストの存在密度は全体的に増加していることが明らかである。渦鞭毛藻類のシストや動物プランクトンの耐久卵の鉛直分布には、流れや生物擾乱が大きく影響を与えると推定されている (Andersonら, 1982; 遠藤・長田, 1984; Marcus, 1984; Marcus & Schmidt-Gengenbach, 1986) ことから、恐らく、Chattonella のシストにおいても、1987 年夏季に海底へと供給されたシストは海底泥表面から鉛直的に相当混合され、下層へ運ばれていると考えられる。

Fig. 38 に示したように、相当多くのシストが海底泥に埋まって存在している。Andersonら (1983) によれば、G. tamarensis においてはブルーム形成期間も大部分のシストが海底泥に発芽しないまま存在し、翌年以降に持ち越されるという。Chattonella のシストは、第 2 章で述べたように、埋まり込み等で発芽の機会を失った場合、二次休眠の状態になって翌

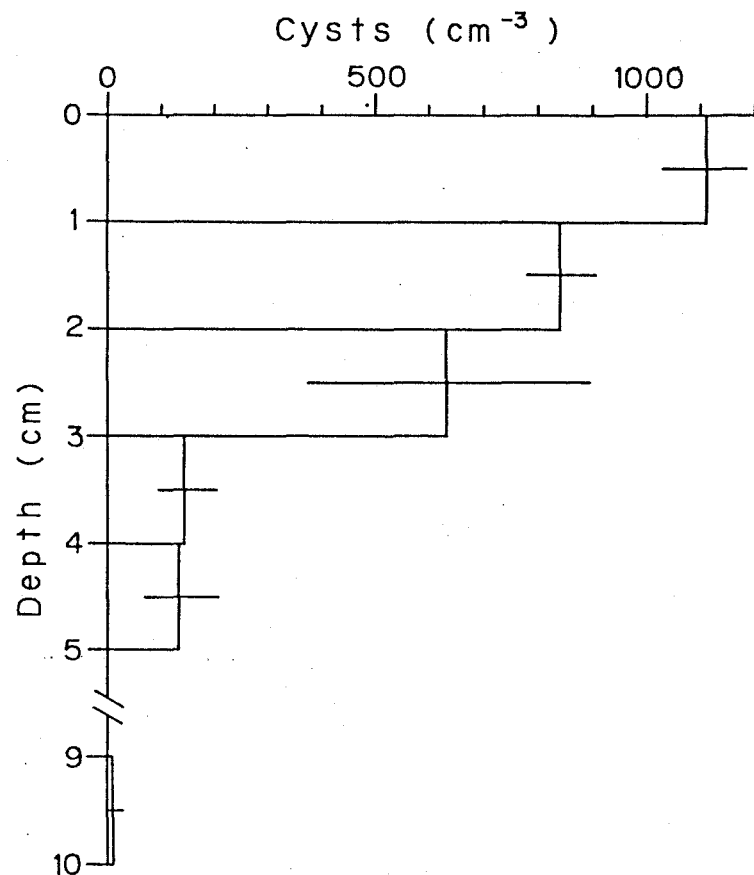


Fig.38. Vertical profile of cysts of *Chattonella* at St.S-35 in Suo-Nada, in March, 1988. Bars represent standard deviations.

年へと持ち越され、発芽する能力を維持することが判明している。そのうえ、鉛直分布の結果から、海底泥に存在するシストは、表面に位置する一部のシストだけが発芽の機会を得ている可能性が示唆される。この点に関しては本章でも後に考察する。

第2節 夏季の現場調査

Chattonella 赤潮の発生には、越冬したシストが seed population として重要な役割を果たしている。第2章で明らかにされたように、瀬戸内海の現場海底泥中に存在する Chattonella のシストの多くは、春季に自発的休眠を完了して生理的に発芽可能な状態になっている。それゆえ、初夏～盛夏における現場水域での栄養細胞の出現状況を調べ、シストの発芽に大きく影響している底層水温の推移を測定し、海底泥に存在する発芽可能なシストの経時変化を把握することは、赤潮発生に関与するシストの役割を評価する上で重要な手掛かりとなるであろう。

本節では、周防灘において 1984 年から 1987 年までの4ヶ年の夏季に実施した現場調査の結果について述べる。

材料および方法

夏季の現場調査を実施した周防灘の定点を Fig. 39 に示した。1984 年の調査は7月中旬(12-14日)に行った。1985と1986年は、6月下旬、7月中旬、8月上旬および下旬の4回、1987年は8月下旬を除く3回、調査を実施した。

各点において、水温、塩分等を測定すると同時に採水を行い、海水中の Chattonella 栄養細胞の出現状況を調べた。採水は、1984年では0mと5m層、1985年以降は0, 5, 10mまたは水深13m以浅の定点では海底上1m(B-1m)の各層から行った。栄養細胞の計数は、総て調査船上で、採水したその日のうちに完了させた。栄養細胞の出現量が少なかった1985年と1986年は、500mlの海水試料を目合い10 μ mのナイロン網地の篩で50倍に濃縮した後、これの1mlを検鏡観察することによって栄養細胞の存在の有無を確認した。1984年と1987年は、採水した海水試料1mlをとって、栄養細胞を計数した。

また、1985-1987年の各調査時には、いくつかの定点でKK式柱状採泥

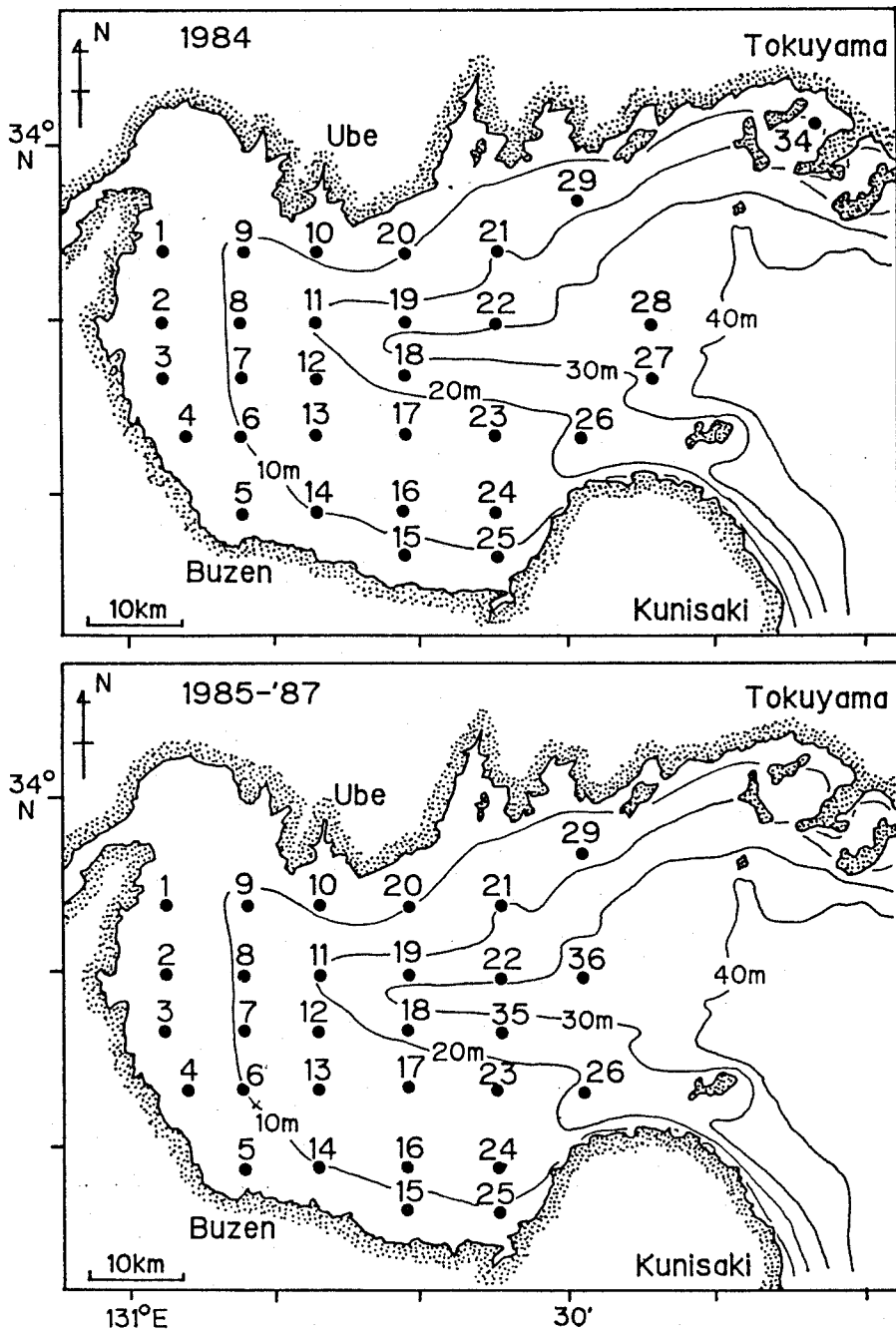


Fig.39. Location of the sampling stations in Suo-Nada.

器による採泥を実施し、表面から 1cm 深までの表層泥に存在している発芽可能なシスト数の経時的な変化を調べた。計数は終点希釈法により、採泥した日に船上で培養を開始した。培養条件は第 2 章で述べた通りである。採泥点は、1985 年が Sts. S-2, 3, 5, 8, 11, 13, 16, 17, 19, 36 の 10 定点、1986 年は Sts. S-2, 17, 25, 36 の 4 定点、1987 年は Sts. S-2, 5, 17, 25, 35, 36 の 6 定点である。

結 果

1. 1984 年

1984 年 7 月 12-14 日の Chattonella 栄養細胞の分布を Fig. 40 に示す。栄養細胞は総ての定点において検出された。高濃度域は灘の西部と南西部の福岡県沿岸域に形成され、最高密度は St. S-2 の 0m 層の 248 細胞 / ml であった。他の水域での栄養細胞の出現量は少なかった。なお、

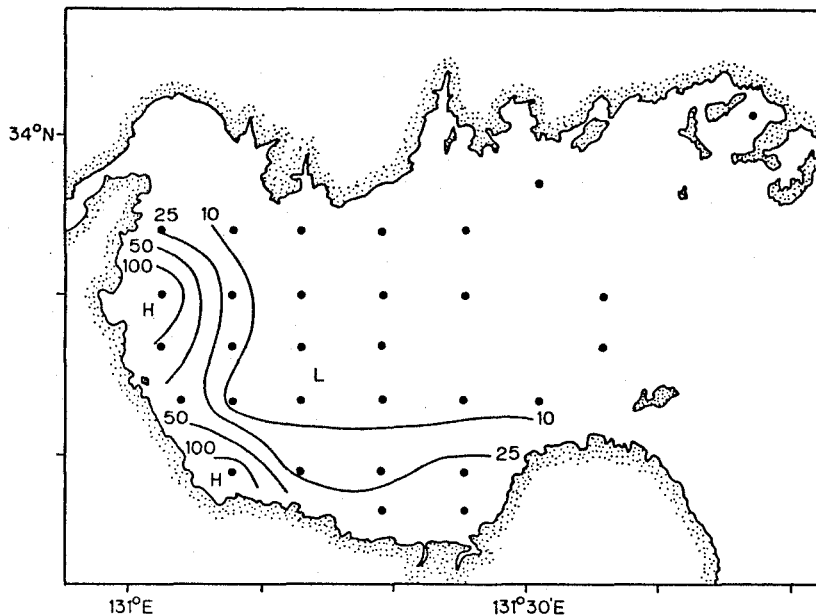


Fig.40. Distribution of vegetative cells of Chattonella in surface water (mean of 0 and 5m samples) during a period from July 12 to 14, 1984. Numerals indicate the number of cells per milliliter.

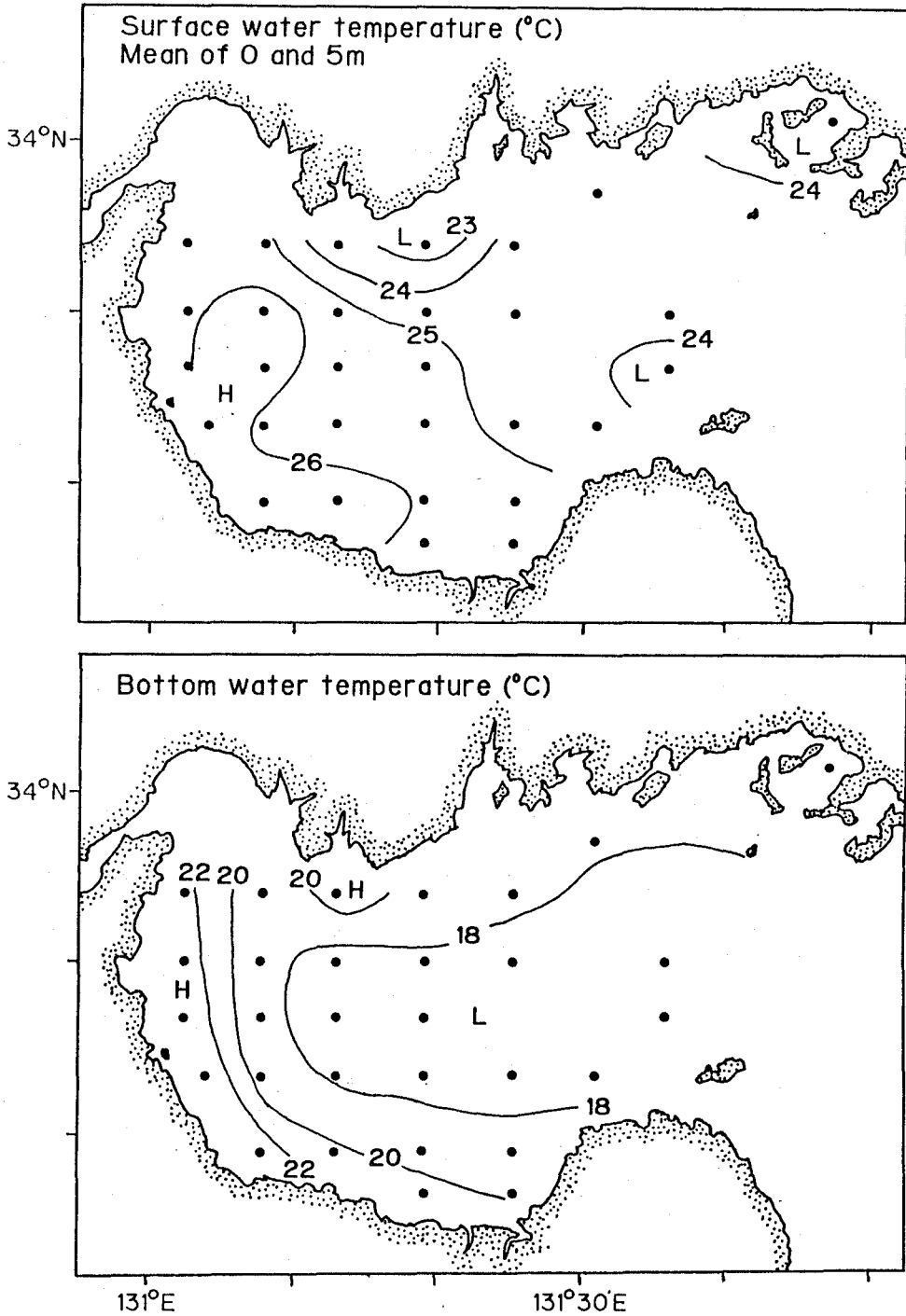


Fig.41. Surface and bottom water (1m above the bottom) temperatures measured during a period from July 12 to 14, 1984.

この調査時に観察された栄養細胞は、第2章第1節で述べた C. antiqua と C. marina の中間の形態をしたものと C. marina が大部分であった。

次に栄養細胞の出現状況と水温との関係を検討するため、Fig. 41 に7月12-14日の表層水温(0mと5mの平均値)ならびに底層水温の水平分布を示す。表層水温は22.3-26.8°Cの範囲にあり、灘の西部~南部沿岸域で高く、東部~北部で低かった。シストの発芽に大きな影響を与える底層水温は16.8-23.2°Cの範囲の値を示し、灘の西部~南部の浅海域で高く、中央~東部の水深の大きい水域で低い傾向を示した。Figs. 40 および 41 を比較参照すると、底層水温が20°C以上である水域と栄養細胞が25細胞/ml以上の水域が概ね一致していた。

2. 1985年

1985年6月下旬~8月下旬の間に実施した4回の調査時の表層水温(0mと5mの平均)と底層水温、ならびに栄養細胞の出現状況をFig. 42に示す。本年の夏季には、伊予灘、周防灘、豊後水道等の瀬戸内海西部水域で Gymnodinium nagasakiense による大規模な赤潮が発生し(伊藤ら, 1986)、約10億円にも上る大きな漁業被害が生じた。このように G. nagasakiense が卓越したため(Table 6)、Chattonella の栄養細胞は濃縮によって辛うじて検出できる程度の密度でしか確認できなかった。6月下旬の調査では、海水を濃縮しても栄養細胞は検出できなかった。7月中旬になると沿岸域を中心に栄養細胞の出現が確認され、8月上旬は西部~南部を中心に分布し、8月下旬においては南部沿岸域を除く大部分の水域で検出された。底層水温の分布をみると、6月下旬と7月中旬を比較しても大差はなく、沿岸域は20°C以上であった。8月上旬には大部分の水域で20°C以上になり、西部沿岸域では28°C以上にも達した。下旬になると灘全域で21°C以上になった。

設定した10定点における表層泥中の発芽可能なシスト数の経時変化と、底層水温の推移をFig. 43に示した。6月下旬と7月中旬では、発芽できるシストの数の間に著しい変化は認められなかった。この間の底層水温は、沿岸域では殆ど変化しないか場所によっては若干低下した。その後8

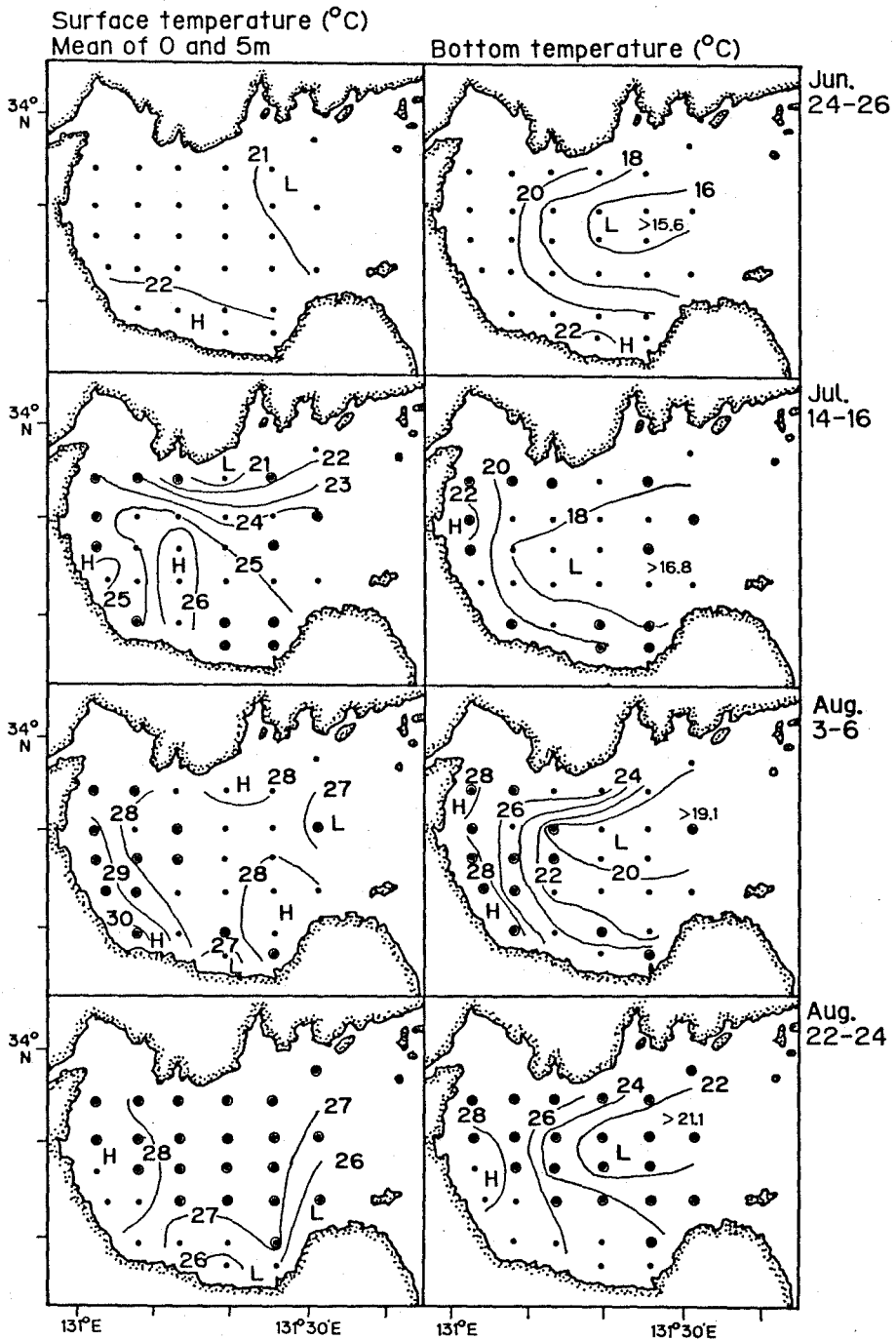


Fig.42. Surface and bottom water temperatures measured during summer of 1985. Circled dots show the stations where vegetative cells of *Chattonella* were detected.

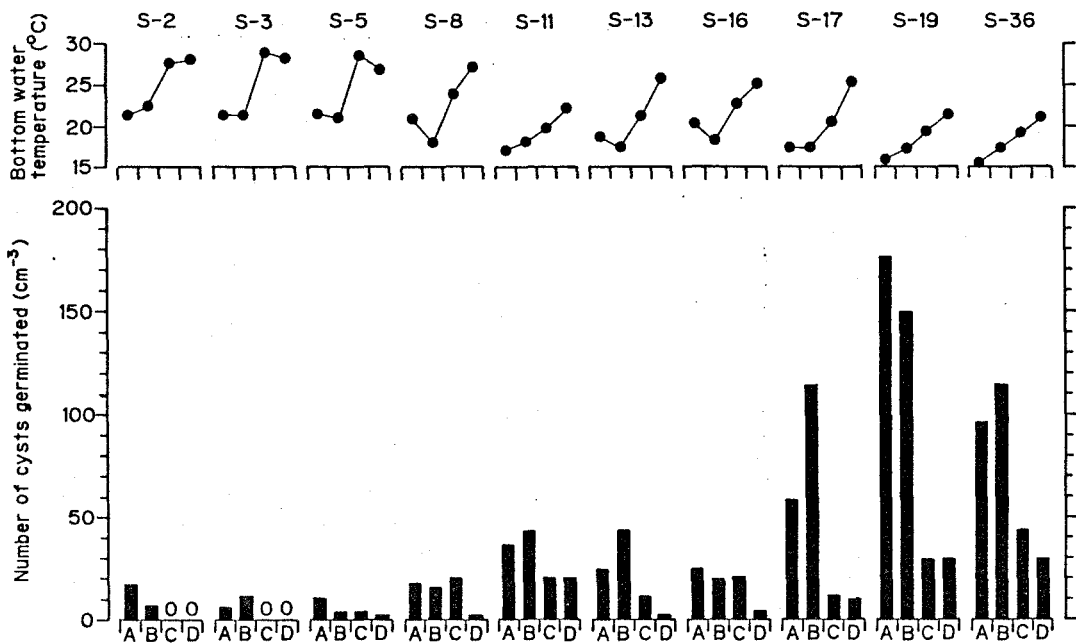


Fig.43. Temporal changes in germinability of cysts of *Chattonella* from fresh sediment samples collected at 10 stations in Suo-Nada, during summer of 1985. The changes of bottom water temperature are also shown.

A: June 24-26, B: July 14-16, C: August 3-6, D: August 22-24

月になると底層水温は灘全域で上昇し、これにつれて発芽可能なシスト数は減少していった。

3. 1986年

1986年6月下旬～8月下旬の間に行った4回の調査時の表層水温と底層水温、および栄養細胞の出現状況を Fig. 44 に示した。1986年の夏季は、1985年程の規模ではないが *G. nagasakiense* が卓越し (Table 6)、高密度域を形成し局所的に赤潮状態となった (伊藤ら, 1987)。*Chattonella* の栄養細胞は 1985年と同様に調査期間を通じて低い密度で推移し、濃縮によってやっと検出できる程度であった。6月下旬の調査時には、灘の西部～南西部沿岸域を中心に栄養細胞が確認された。その後、7月中旬以後になると、広範囲の水域から栄養細胞は検出されるようになったが、

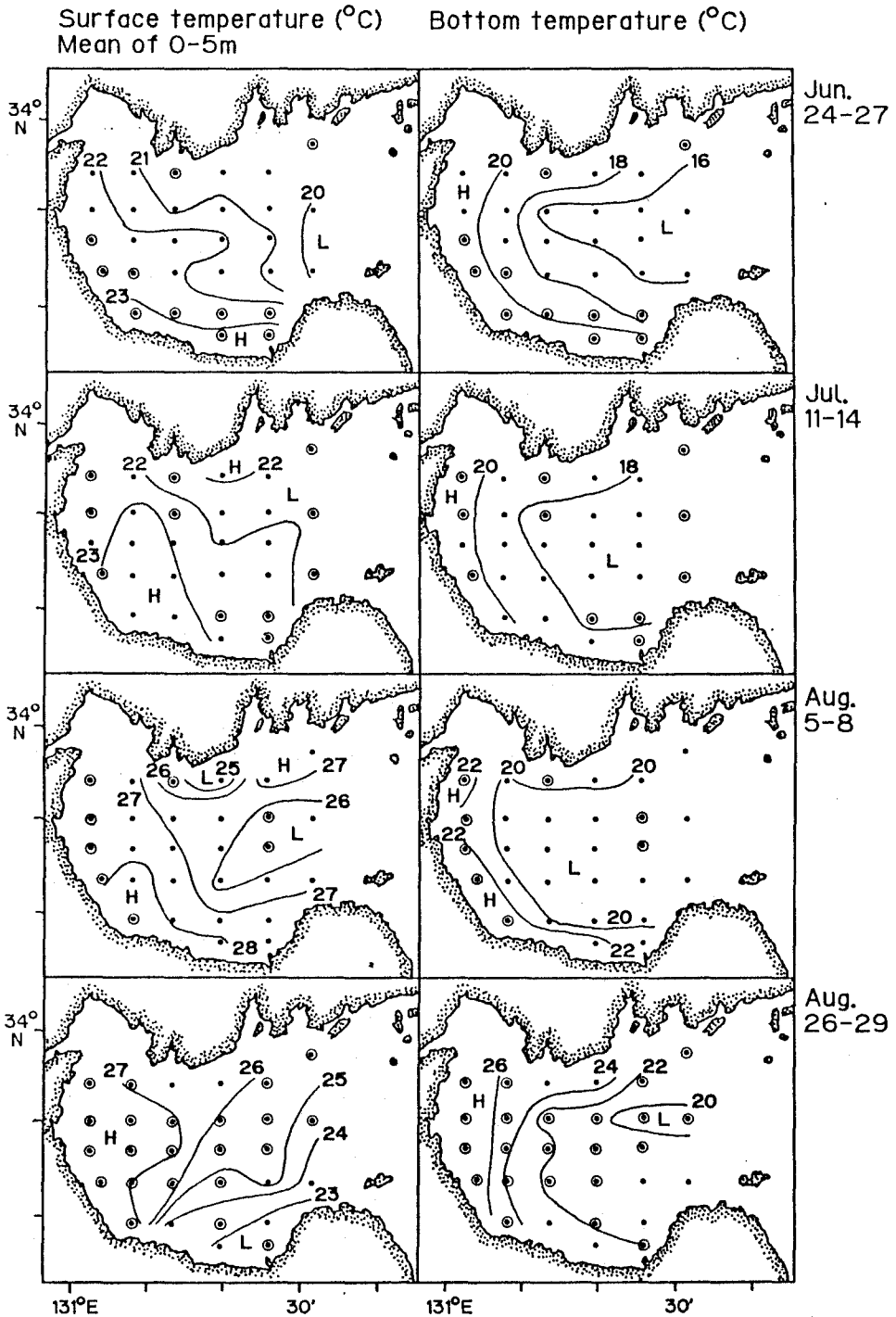


Fig.44. Surface and bottom water temperatures measured during summer of 1986. Circled dots show the stations where vegetative cells of Chattonella were detected.

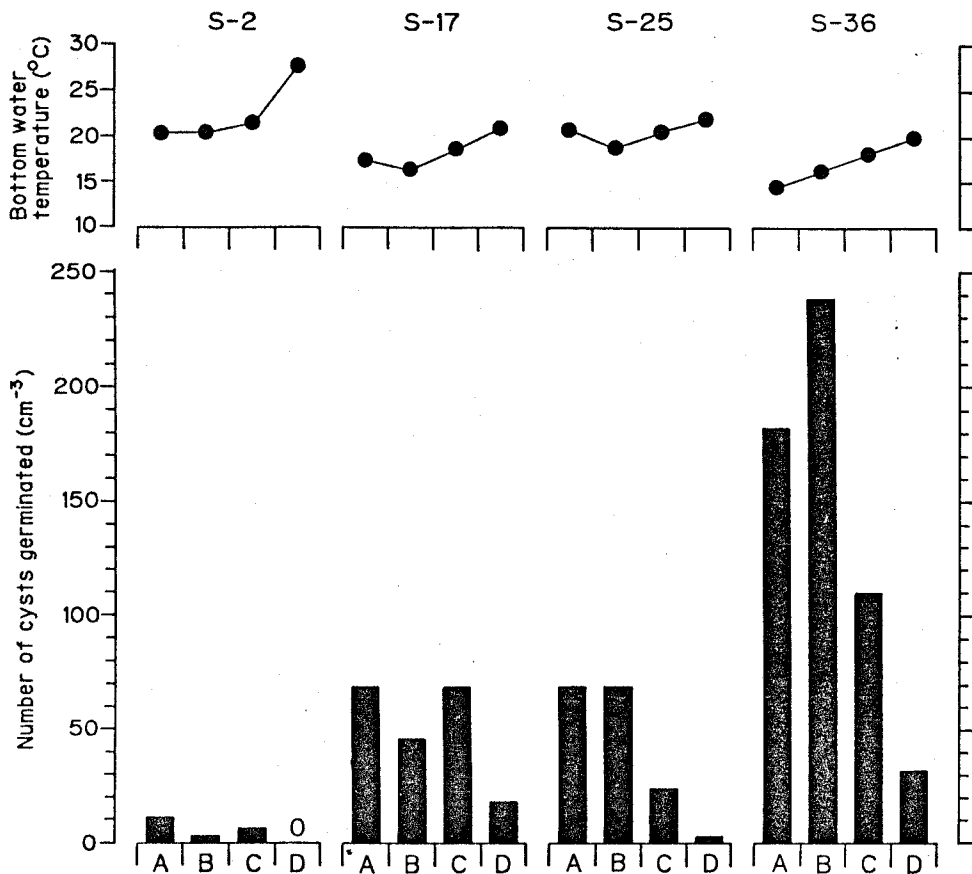


Fig.45. Temporal changes in germinability of cysts of *Chattonella* from fresh sediment samples collected at 4 stations in Suo-Nada, during summer of 1986. The changes of bottom water temperature are also shown.
 A: June 24-27, B: July 11-14, C: August 5-8, D: August 26-29

その密度は増加しなかった。

底層水温は、1985年に比べて若干低めに推移したもののその傾向は類似した。とくに6月下旬と7月中旬を比べると20℃以上の水域が7月で逆に狭くなっていた。8月上旬になっても20℃以上の底層水温の水域は狭く、8月下旬になってやっと1985年の8月上旬と近い状況になった。

Fig. 45に、4定点における表層泥中の発芽可能なシスト数の経時変化と、底層水温の推移を示した。発芽できるシスト数の変化傾向は、大局的には1985年の夏季と類似しているが、8月になっての発芽するシストの減少の仕方は1985年よりも少し遅いようである。

4. 1987年

6月下旬～8月上旬の間に3回の調査を実施したが、その間の栄養細胞の出現状況を Fig. 46 に示した。6月下旬の段階で灘の南～西部を中心に、1細胞 / ml 以上の密度で確認され（最高は St. S-7 の B-1m で5細胞 / ml、次いで S-5 と S-6 の B-1m 層で4細胞 / ml）、7月中旬になると灘中央部を中心として 100 細胞 / ml 以上に増加した（最高値は St. S-8 の 0m 層, 212 細胞 / ml）。このように高い密度の栄養細胞は8月上旬の調査時にも認められた（最高値は St. S-11 の 0m 層, 81細胞 / ml）。

水温の推移を Fig. 47 に示した。表層水温は、6月下旬以降 Chattonella の増殖に好適な範囲内（20-30℃；矢持，1984a）にあった。底層

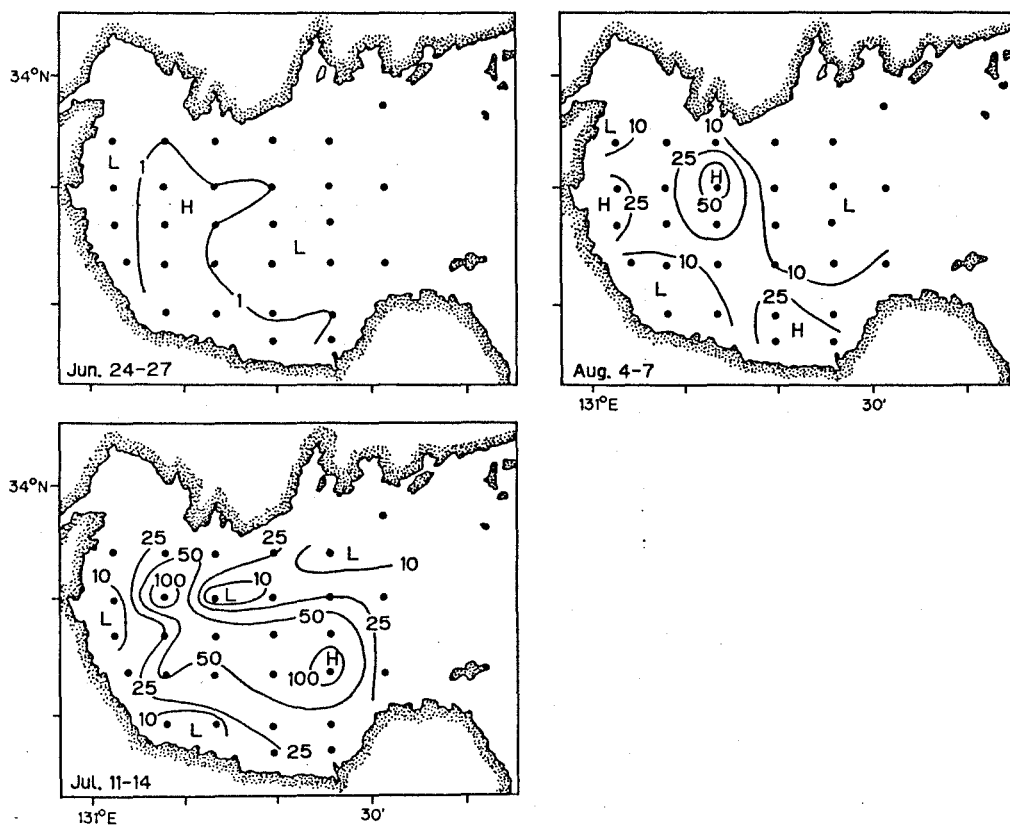


Fig.46. Distribution of vegetative cells of *Chattonella* in Suo-Nada, during summer of 1987. Numerals indicate mean cell number per milliliter.

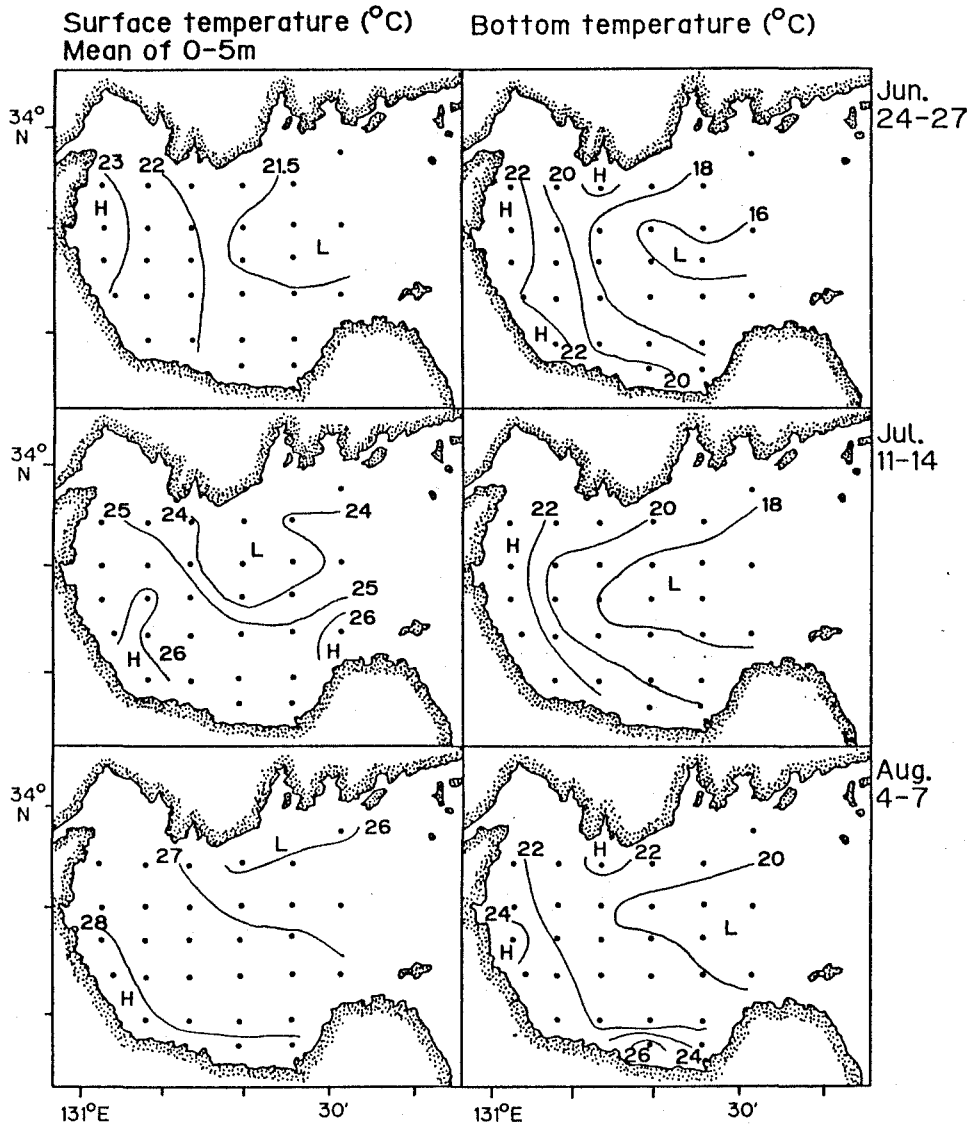


Fig.47. Surface and bottom water temperatures in Suo-Nada, during summer of 1987.

水温をみると、6月下旬の時点で 20°C 以上のシストの発芽に好適な水域が西部～南部沿岸域に比較的広く存在していた。7月中旬になるとその水域はさらに拡大した。この点が 1985 年および 1986 年と異なっていた。その後、8月上旬には灘の東部沿岸域を除く大部分の水域で 20°C 以上になった。

設定した6定点における表層泥中の発芽可能なシスト数の経時的变化を Fig. 48 に示した。発芽可能なシストの数は、1985 年あるいは 1986 年の夏季と同様、6月下旬と7月中旬では殆ど差が認められず、8月になって減少が認められた。

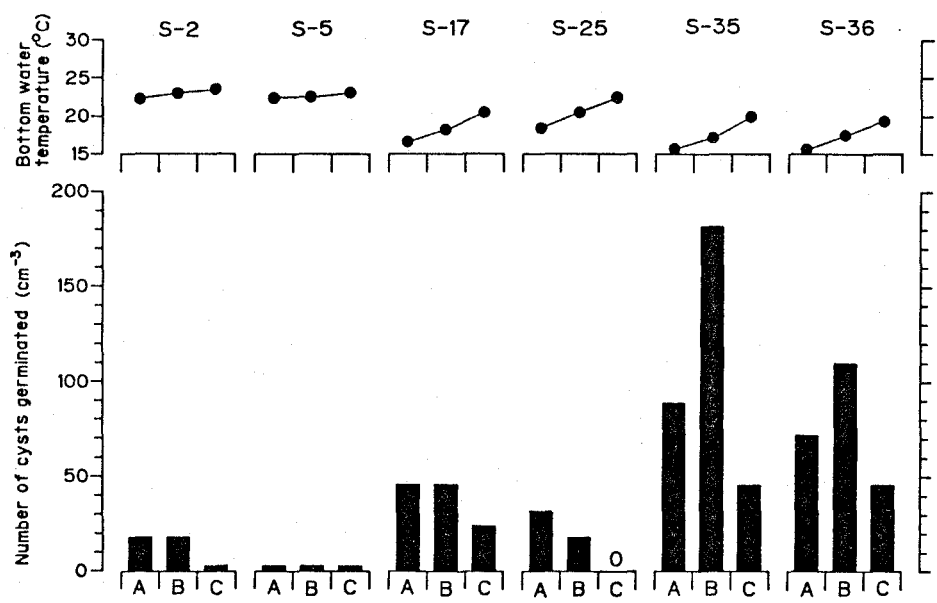


Fig.48. Temporal changes in germinability of cysts of *Chattonella* from fresh sediment samples collected at 6 stations in Suo-Nada, during summer of 1987. The changes of bottom water temperature are also shown. A: June 24-27, B: July 11-14, C: August 4-7

考 察

海底泥に存在する Chattonella のシストは、その生理的性質（休眠、成熟、発芽等）が著しい季節性を示すことは既に述べた（第2章第2節）。瀬戸内海等においては、赤潮を形成する前の初夏の段階で、多くのシストが発芽能力を持っており、seed population として待機している。

1984-1987 年の4ケ年間の夏季に現場調査を実施したが、Chattonella が赤潮生物として卓越したのは1984と1987年であり、1985と1986年は極めて低い濃度でしか出現しなかった。

1984年7月中旬の栄養細胞の高密度域は、灘の西部と南西部沿岸域に形成され、シストの分布と全く合っていなかった。1987年夏季の栄養細胞の分布を見ると、6月下旬の時点では灘の南～西部沿岸を中心に1細胞/ml以上の水域が認められ、7月中旬は概ね灘の中央部付近に高密度域があった。シストの分布傾向を比べてみてもやはりあまり良くは合わなかった。シストと栄養細胞では、高密度域の形成機構が基本的に異なっているものと考えられる。

表層泥に存在する発芽可能なシストの数の経時的变化をみると、1985-1987年の3ケ年においては類似した傾向がみられた。すなわち、6月下旬と7月中旬の調査時には、発芽できるシストの数にあまり変化がなく、8月以降に減少した (Figs. 43, 45, 48)。

表面から1cm深までの表層泥の総シスト数は、1986年3月から1987年6月下旬までの間、著しい変動は認められなかった。1987年6月下旬および7月中旬の調査時にもシストの数は減少せず、8月上旬になると逆に増加した (Fig. 37)。一方、栄養細胞の出現状況をみた場合、1987年の6月下旬の時点で多いところで4-5細胞/mlであったが、7月中旬になると最高100細胞/ml以上の密度で確認された。

以上のことから、夏季の間に実際に発芽するのは、大きな海底擾乱のない限り、海底泥表面に存在するごく一部のシストであると考えられる。また、シストの鉛直分布 (Fig. 38) をみると、1cmより深い層にも相当数の

シストが存在しており、このことを示唆している。さらに、8月になってもシストはある程度発芽能力を維持していた。底層水温の推移を考えに入れるならば、周防灘においては、数は多くないであろうが相当長期間シストの発芽が継続していると思われる。その後夏も終わりになってくると、泥の表面よりも深層に分布する大部分のシストは二次休眠の状態になるであろう。

赤潮の発生に関与するシストの1つの大きな役割として、近年まで一斉発芽の可能性が示唆されてきた (Steidinger, 1975; Anderson & Wall, 1978)。一斉発芽がもし起こった場合、増殖に好適な条件が整っていれば赤潮になり易いことは容易に想像できる。しかしながら、発芽にも増殖にも好ましい条件が揃うのは希であろうし、一斉発芽した際に捕食者が多かったり栄養環境が悪かったりすれば、その種の個体群は潰滅的打撃を被ることになるであろう。Chattonella の場合は、シストの発芽が少しずつ継続することにより、上述のような危険を回避し、かつ増殖に好適な環境条件に遭遇する機会を長期間伺うことができる。それゆえ、このようなやり方は一斉発芽に比べて、種の生存戦略として優れていると考えられる。またその夏に機会に恵まれなくても、二次休眠によって翌年へと多くのシストが持ち越されて、再度個体群拡大への可能性に向けて挑戦できる。このような観点から判断すると、Chattonella のシストは赤潮を形成するのに有利な性質を持っているといえよう。

第3節 周防灘における Chattonella 赤潮の発生機構に関する考察

Chattonella 赤潮の発生は、海底に存在するシストの発芽が起源となり、発芽した栄養細胞が増殖し、集積等を経て赤潮にいたるといった動的過程の結果として基本的に考えることができよう。そして、これらの過程に対し、気象、海象、他生物（競合や捕食等）、あるいは栄養環境等の、物理、化学、生物的な種々の要因が連結的に作用していると想定される。本節では、周防灘、特に西～南部沿岸域における Chattonella 赤潮の発生機構について、シストが関与する赤潮の発生初期過程を中心に考察する。

1. 周防灘の概要と赤潮の発生状況

周防灘は瀬戸内海西端部に位置し、面積 3,100km²、平均水深 23.7m の内湾であり（村上, 1976）、山口、福岡、大分の3県に囲まれている。灘の東部は伊予灘と接しており、西部は関門海峡で響灘へと通じている。灘の西～南部の沿岸域に水深 10m 前後の浅い水域が広がり、水深 20m 以上の深い水域は東部から中央部へと食い込んできている（Fig. 39 参照）。

周防灘における Chattonella 赤潮は、1970 年夏季に初めて発生が確認されて以来（池田ら, 1971）、1972、1973、1976、1977、1979、1981 年と頻発し（寺田ら, 1982；伊藤, 1987）、本研究開始後も 1984 年と 1987

Table 6. Red tide occurrences in Suo-Nada during summer of 1984 - 1987.

year	Dominant organism	Order of maximum cell density (ml ⁻¹)
1984	<u>Chattonella</u>	10 ³
1985	<u>Gymnodinium</u> <u>nagasakiense</u>	10 ⁴
1986	<u>Gymnodinium</u> <u>nagasakiense</u>	10 ³
1987	<u>Chattonella</u>	10 ²

年に小規模ながら発生している (Table 6)。また赤潮の発生し易い海域は、沿岸域に認められるとされている (寺田ら, 1982)。

2. 水温環境とシストの発芽

周防灘の平均的な海況 (吉岡ら, 1987) を参照すると、Chattonella のシストの発芽に大きな影響を及ぼす底層水温は、5月上旬には西～南部沿岸域で 15°C に達する。シストは 15°C の温度でも僅かながら発芽できるので (Figs. 4 と 8)、この頃には現場水域でも数は少ないであろうが発芽が起こり始めていると想像される。その後6月上旬になると西～南部沿岸域で底層水温が 20°C 以上に達し、シストの発芽が活発化するものと考えられる。また表層の水温も6月には概ね 20°C 以上になり、栄養細胞の増殖に適するようになってくる。7月上旬では、底層水温 20°C 以上の水域がさらに拡大し、表層水温も 25°C 前後になって、シストの発芽および栄養細胞の増殖に最も好適な水温環境となる。

以上のことから、周防灘においては、シストの発芽は沿岸域を始まりとして徐々に沖合域へと拡大していくと想定される。1986 および 1987 年の6月下旬に行った調査結果を見ると、西～南部沿岸域に栄養細胞の分布の中心が確認された (Figs. 44, 46)。

周防灘の地形的特徴を見た場合、西～南部沿岸域に 10m 以浅の水域があり、中央～沖合域には 30m 以上の水深の場所が認められる (Fig. 39)。夏季の底層水温の分布はこのような灘の水深構造に影響されており、例えば、1987 年7月中旬においては西部沿岸域で 23°C 以上、中央～東部で 18°C 以下と、水域間の差が大きい (Fig. 47)。このことは、海域全体から見ればシストの発芽できる温度条件の期間が相当長く保証されることを意味しており、栄養細胞は継続的に水中へと供給されると考えられる。実際、8月になっても発芽可能なシストの数は、沖合域では沿岸域ほど急激には減少しないようである (Figs. 43, 45, 48)。この間に栄養細胞の増殖に好適な条件が得られれば、容易に赤潮になり得るであろう。

3. 他の赤潮生物との競合

赤潮が発生する時に、最初の段階から単一の種が卓越していることはまず考えられない。赤潮生物として Chattonella が卓越したということは、他の植物プランクトンとの競争に勝利した結果であろう。現場調査を実施した4年間（1984-1987年）の夏季の周防灘においては、Table 6 に示したように、Chattonella かあるいは渦鞭毛藻類の G. nagasakiense のどちらかが卓越した。このことは、Chattonella の競合赤潮生物として G. nagasakiense が重要であることを意味するだけでなく、これらの赤潮生物の増殖を支える栄養が夏季の周防灘に存在したことと、動物プランクトンによる捕食（Tsuda & Nemoto, 1984; Uye, 1986; 伊藤・今井, 1986）等のマイナス要因がさほど強く作用しなかったことを示しているといえよう。

夏季の周防灘においては、表層の水温は 25°C 以上に達する。Iwasaki (1979) によれば、水温 25°C 以上でも良好な増殖を示す赤潮生物は比較的少ないと総説されている。しかし、Chattonella 属の2種 C. antiqua と C. marina は共に 20-30°C の間で良く増殖し（矢持, 1984a）、25°C が最適と報じられている（Nakamura & Watanabe, 1983a; 矢持, 1984a）。また、G. nagasakiense も 25°C で最大の増殖速度を示す（山口, 1988）。Chattonella の卓越した年とそうでない年では、どのような要因の相違が認められるのであろうか。

1986 および 1987 年の6月下旬の時点における G. nagasakiense の分布を Fig. 49 に示す。両年共に、低密度の水域では1細胞 / ml 以下、多い所で 10 細胞 / ml を越えることはなく、ほぼ類似した分布傾向であった。G. nagasakiense は遊泳体のまま越冬していることが示唆されており（中田・飯塚, 1987; 寺田ら, 1987）、初夏のこの時期の細胞密度は夏の赤潮発生期のための seed population として重要であると考えられよう。一方 Chattonella について見ると、1986 年の同時期では、海水の濃縮によって辛うじて検出できる程度の細胞密度であったが、灘の西～南部沿岸域を中心に確認された（Fig. 44）。1987 年の場合は、西～南部沿岸域で1細胞 / ml 以上の密度の水域が6月下旬の段階で確認された（Fig. 46）。

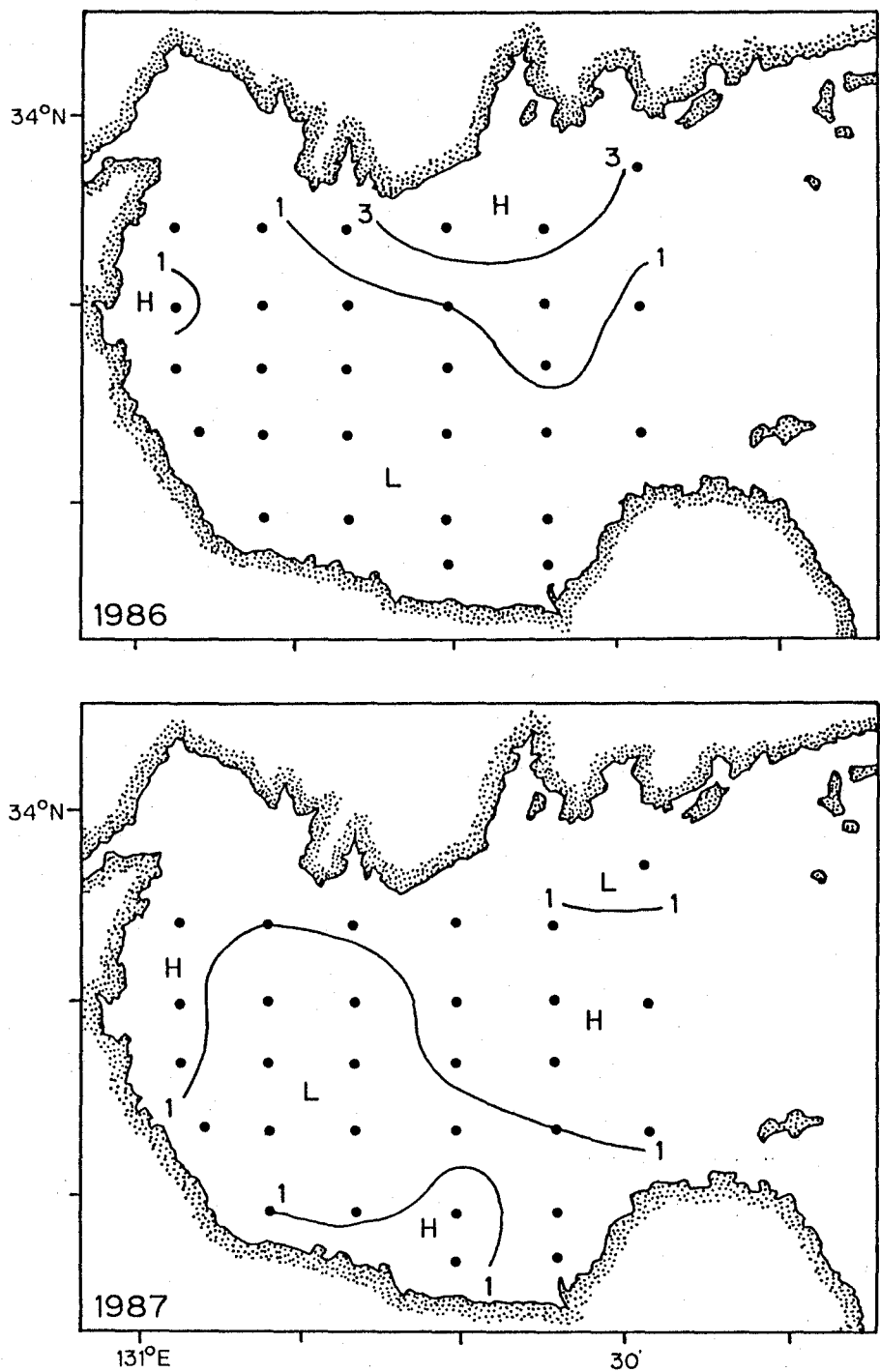


Fig.49. Distribution of *Gymnodinium nagasakiense* in Suo-Nada, in late June of 1986 and 1987. Numerals indicate the number of cells per milliliter.

その後7月中旬の調査時になると、1986年では G. nagasakiense が、1987年では Chattonella が卓越した (Table 6)。

前述したように、Chattonella のシストは6月上旬頃より水深の浅い西～南部沿岸域を中心に発芽が活発になり始め、徐々に沖合域へと進行していくと想定される。発芽して水中に出現した栄養細胞に対して、その時の環境条件は大きな影響を及ぼし、その後の個体群の発展を左右すると考えられる。Fig. 50 に、調査を開始した 1984 年から 1987 年の4年間の福岡県豊前水産試験場における 6-7 月の各旬毎の雨量と平均日照時間 (時間 / 日) を示した。とくに日照時間に注目した場合、1985 年6月下旬においては平均 2.5 時間 / 日と極端に少なく、この調査の時には Chattonella の栄養細胞は海水を濃縮しても検出できなかった。翌 1986 年の6月の間の日照時間も短く、やはり Chattonella は低密度であった。1985 および 1986 年の両年共に、7月以降 G. nagasakiense が卓越した。以上の結果から、Chattonella が G. nagasakiense を制して卓越するためには、豊富な日照時間が必要であることが示唆される。

室内の培養実験条件下で G. nagasakiense および C. antiqua の増殖速度と光強度の関係が調べられている。C. antiqua においては、僅かながらでも増殖が認められるのは $0.011 \text{ ly} / \text{分}$ 以上の光条件下であると報告されている (Nakamura & Watanabe, 1983a)。この光強度の値は、約 $35 \mu\text{E} / \text{m}^2 / \text{秒}$ と換算される。一方 G. nagasakiense については、1日当たり約 0.2 回分裂の増殖速度を与える光強度は約 $10 \mu\text{E} / \text{m}^2 / \text{秒}$ であるとされている (山口, 1988)。単純に比較した場合、低照度条件下では G. nagasakiense の方が C. antiqua に比べて有利である。

夏季の播磨灘においては、海表面照度は概ね $0.04-1 \text{ ly} / \text{分}$ の範囲にあるという (渡辺, 1988)。透明度を 5m と仮定した場合、海での吸光係数 0.34 (有賀・横浜, 1979) を用いて計算すると、5m 深での水中照度は海表面の 18% となる。悪天候で低照度の日には 5m 層で $0.01 \text{ ly} / \text{分}$ 以下の照度しかないことになり、したがって、Chattonella の増殖が僅かでも保証される場合は表層からたったの 5m もないことになる。梅雨期に低照度の曇天の日が連続すれば、シストから発芽して水中に出てきた Chat-

tonella にとっては光条件の面で増殖に極めて不利な環境であると言えよう。

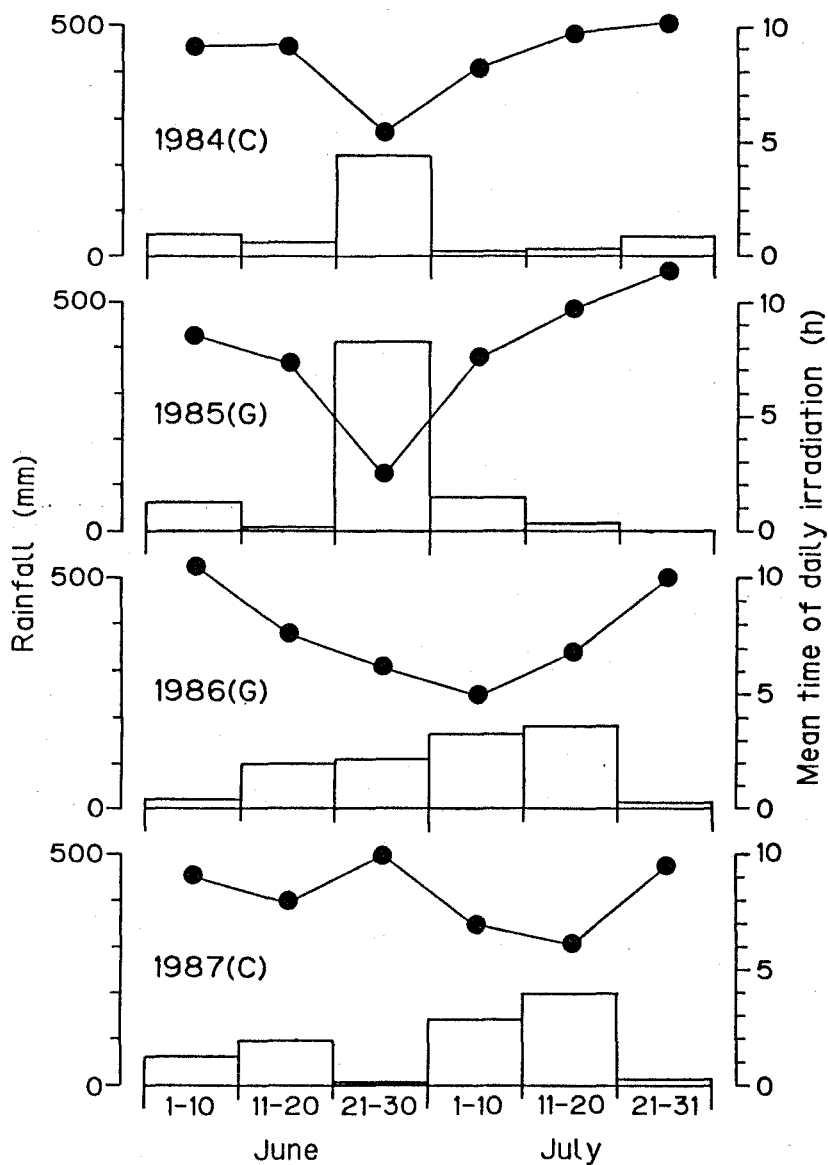


Fig.50. Rainfall (histograms) and irradiation time (●) at Buzen, south-western coast of Suo-Nada, in June and July of 1984-1987. "C" indicates the occurrence Chattonella red tide, and "G" does that of Gymnodinium nagasakiense.

1984 年および 1987 年の夏季に実施した調査によると、7月中旬の時点で最高 100 細胞/ml 以上の Chattonella の栄養細胞が検出された。従って、周防灘においては、Chattonella が順調に増殖した場合には、7月上旬までの環境条件が大きく影響しているものと考えられる。福岡県豊前水産試験場において日照時間を観測し始めた、1982 年から 1987 年の 6 年間の 6 月 1 日から 7 月 10 日までの 40 日間の雨量と日照時間（福岡

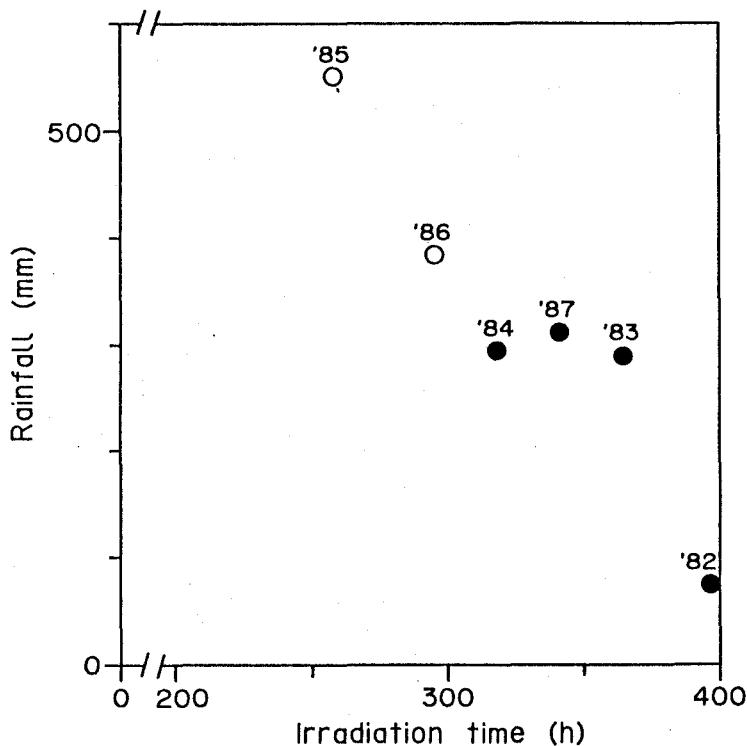


Fig.51. Cumulative rainfall and irradiation time at Buzen, south-western coast of Suo-Nada, during the period between June 1 and July 10 of 1982-1987. Closed circles show the dominance of Chattonella in Suo-Nada, and open circles do that of Gymnodinium nagasakiense.

豊前水試, 1984-1987, 印刷中) の関係、および Chattonella の増殖の有無を Fig. 51 に示した。なお、ここでは Chattonella が 10^1 細胞 / ml のオーダー以上で確認された場合を "増殖した年" とした。日照時間が少なく、雨量の多かった年 (1985 と 1986年) に G. nagasakiense が卓越し、とくに 1985 年では場所によって 10^4 細胞 / ml 以上もの高密度が観察されている (伊藤ら, 1986)。 Chattonella は、日照時間が 40 日間で概ね 300 時間を越えた年に増殖した。今後の検討を要するのは勿論であるが、周防灘においては、Chattonella のシストの発芽が活発化すると想定される 6月上旬から、7月上旬までの間の気象条件 (特に日照) が、Chattonella の出現の有無をある程度予知する指標になり得るのではないかと考えられる。

Chattonella の競合生物の中で、その他に重要なものとして珪藻類が挙げられる。沿岸域における植物プランクトンの遷移過程を見ると、春に珪藻類がブルームを形成した後には鞭毛藻類が卓越すると一般的にいわれている (例えば柳田, 1976; Nakahara, 1978)。夏季の周防灘において、Chattonella や G. nagasakiense が卓越することはこのことを裏付けているといえよう。温帯水域では一般に、春になると珪藻類を主体とするブルームが起こるが、それに伴って栄養塩類が枯渇し、その結果休眠孢子 (resting spore) が形成されることが知られている (Sakshaug & Myklesstad, 1973; Hargraves & French, 1975, 1983; Hollibaughら, 1981; Garrison, 1981, 1984; Smetacek, 1985; Odate, 1987)。栄養塩類の中でも特に窒素の欠乏 (概ね $1\mu\text{M}$ 以下) が、休眠孢子的形成に作用するといわれている (Davisら, 1980; French & Hargraves, 1980; Garrison, 1981; Hargraves & French, 1983)。形成された珪藻の休眠孢子は海底へと沈降し、栄養細胞にとって不適な時期を過ごすと考えられている (Garrison, 1981, 1984; Hargraves & French, 1983; Smetacek, 1985)。実際、海底泥中には多くの珪藻の孢子が存在していることが報告されている (Gucluer & Gross, 1964; Zgurovskaya, 1977; Imaiら, 1984; Yamochi & Joh, 1986)。現在、珪藻類の休眠孢子的休眠についての詳細な研究は殆ど

なされていないが、胞子が発芽能力を獲得するために一定以上の休眠期間の必要な種も知られている (von Stosch & Fecher, 1979)。一方、適当な温度と十分な光が与えられれば、形成直後でも発芽可能なものもある (Hollibaughら, 1981; Garrison, 1981, 1984; Hargraves & French, 1983)。海底に存在する珪藻の胞子は、平穏時には発芽に必要な条件 (とくに光) が充足されないと推測される。強風や湧昇による激しい鉛直混合があれば休眠胞子の巻き上げが生じ、胞子の発芽が起こると考えられるが (Takahashiら, 1977; Roman & Tenore, 1978)、そのような激しい擾乱がなければ珪藻の休眠胞子は発芽しにくいと想定される。さらに、前述したように休眠期間の必要な珪藻の休眠胞子もあり、もし他の多くの珪藻類の胞子も現場海域の海底において発芽するまで一定の休眠期間を必要とするなら、その間水柱に珪藻の栄養細胞が存在しなくても不思議ではない。珪藻類の休眠胞子が、現場の海底で真に休眠しているか否かを明らかにすることは、将来の重要な研究課題である。以上のような珪藻類の挙動を考慮し、一方で初夏～盛夏における Chattonella のシストの発芽 (海底表面にあれば攪乱なしでも発芽すると考えられる) や G. nagasakiense の栄養細胞の存在を念頭に置くならば、夏季の周防灘において、珪藻類が優勢にならずに Chattonella やあるいは G. nagasakiense 等の鞭毛藻類が卓越することは、充分必然性のある現象であると考えられる。

4. Chattonella 赤潮の発生過程の仮説

周防灘西部沿岸域における Chattonella 赤潮の発生過程についての単純化した概念図を Fig. 52 に示した。以下に発生過程についての仮説を述べる。

Chattonella のシストは沿岸域で低密度に、沖合では高密度に存在する傾向がある。水温の低い4月では、多くのシストはすでに生理的に発芽可能な状態にある (Fig. 12)。シストの発芽に大きな影響を与える底層水温は徐々に上昇し始め、沿岸域において5月上旬には 15°C に、6月上旬になると 20°C に達する (吉岡ら, 1987)。この頃から沿岸域に存在するシ

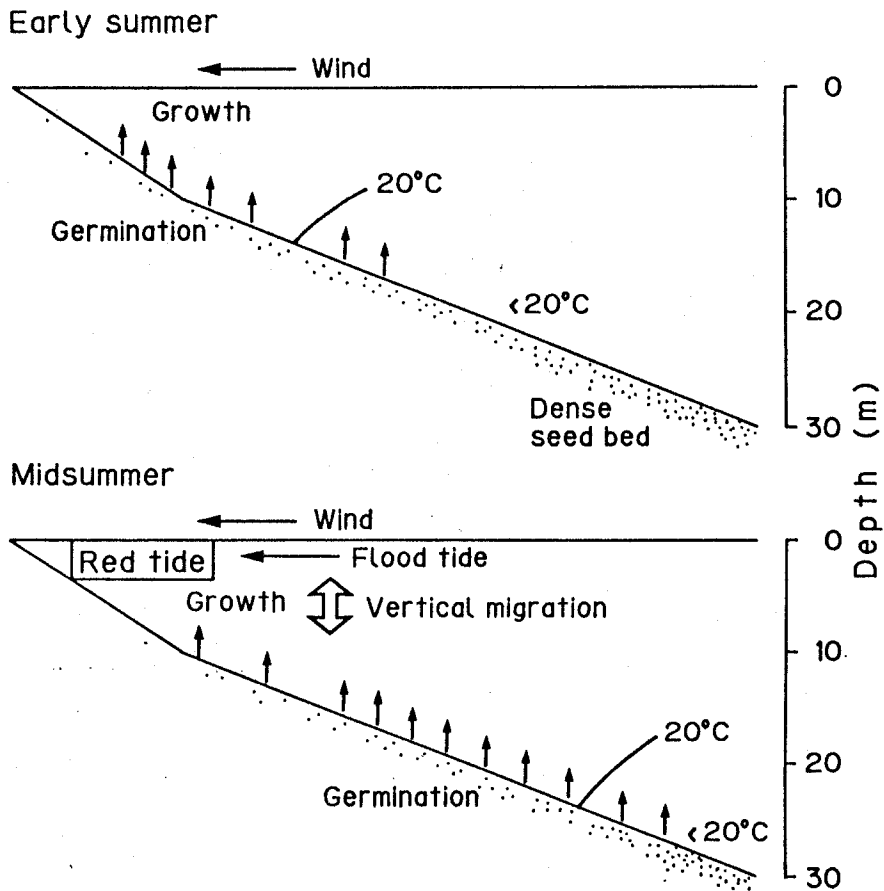


Fig.52. A schematic representation of the outbreak of Chattonella red tide in the western coastal area of Suo-Nada.

シストの発芽が活発化し始め、その結果生じた栄養細胞は表層水中で増殖を開始する。従って、Chattonella の初期個体群の起源は沿岸域にあると推定される。その後盛夏に向かうにつれて、底層水温 20°C の等温線は水深の大きい沖合部へと移行し、ここに比較的高密度で存在するシストも順次発芽して、表層水中で増殖し始める。このように、シストの発芽は、比較的長期間継続していると考えられよう。

Chattonella のシストが活発に発芽して増殖を開始する時期には、有力な競合生物である珪藻類は前述したように、休眠胞子の状態で海底に存在すると推測される。それゆえ、陸上あるいは底層起源の栄養塩類や増殖促

進物質が降雨や鉛直混合等によって表層水中に供給されても、珪藻類に利用される可能性は殆ど無く、Chattonella をはじめとする鞭毛藻類が増殖して卓越することになるであろう。

表層水中に Chattonella の初期個体群が出現し増殖し始める頃、別の競合生物である G. nagasakiense の存在密度、および環境要因（とくに気象条件）がその後の Chattonella の増殖の成否の鍵を握っているであろうことは既述した。すなわち、豊富な日照が Chattonella の卓越に必要であることが示唆された。

以上のような好適条件下で Chattonella は増殖を行い、集積等を経て赤潮を形成するものと考えられる。周防灘における赤潮の多発海域は西～南部沿岸域であり（寺田ら，1982）、1979年の Chattonella (C. marina) の記録的大発生、および本調査を開始した1984年の発生もこの水域が中心となった。これまでの知見によると、Chattonella の栄養細胞は日周鉛直移動を行い、昼は表層に、夜は4-10m層に多く分布すること（池田ら，1971；浜本ら，1979）、周防灘は恒流の変動に及ぼす風の影響が比較的強い水域であること（高杉ら，1985）、また栄養細胞の集積や拡散に風が影響を与えること（吉田・沼田，1982b）などが知られている。1979および1984年の周防灘南西部に位置する福岡県豊前水産試験場においては、日中には東～北方向の風（沖合から沿岸に吹く風）が卓越した（寺田ら，1981，寺田・神蘭，1986）。このような風によって表層の栄養細胞は沖合から沿岸へと吹送・集積されたと考えられる。夜になると陸風が沖合へ向かって吹くが、この時には栄養細胞の大部分が下に移動しているため、この風の影響は受けにくいであろう。吉田・沼田（1982a, c）によると、日中の浮上時間帯が上げ潮期に相当する小潮時の潮汐も、沿岸域への栄養細胞の集積に貢献するという。

周防灘の西～南部沿岸域においては、以上のような種々の段階的過程を経て Chattonella による赤潮が発生するものと想定される。今後、総合的な観点からの検証が必要であると思われる。

第5章 瀬戸内海の諸水域および 鹿児島湾におけるシストの分布

漁業被害を与える有害赤潮生物や、貝毒の原因となる有毒プランクトンのシストの分布状態が明らかになり、発芽した栄養細胞の増殖と集積の過程を把握できれば、赤潮の発生機構を解明する有力な手掛かりとなり、ひいては赤潮の発生予知に大きく貢献すると期待できよう。Chattonella 赤潮が過去に発生した水域においてシストの分布を調べることは、このような意味で基本的に重要である。

貝の毒化が深刻な問題となっている北米沿岸域では、原因生物である Gonyaulax 属のシストの分布が詳しく調べられた (Lewisら, 1979; Andersonら, 1982a, b; White & Lewis, 1982; Thayerら, 1983)。我が国沿岸域においても、福代 (1982) が Protogonyaulax 属のシストの分布を精力的に調査してその実態を明らかにした。また、その他の渦鞭毛藻類のシストの分布についても知見が集積されつつある (小林ら, 1981, 1986; Balchら, 1983; Lewis, 1988)。

一方、Chattonella のシストの分布はこれまで全く不明であった。本研究において第2章および3章でシストの計数方法を検討し、第4章で周防灘におけるシストの分布を詳細に調べた。本章では、瀬戸内海の他の諸水域 (大阪湾、播磨灘、燧・備後灘、広島湾北部) ならびに鹿児島湾における Chattonella のシストの分布を明らかにし、主に赤潮の発生場所との関係について論じた。

第1節 大阪湾

大阪湾は瀬戸内海東端部に位置し、面積 $1,529\text{km}^2$ 、平均水深 27.5m の閉鎖的な湾である(村上, 1976)。南は友ヶ島水道から紀伊水道を通じて外洋系水と交換があり、西は明石海峡によって播磨灘とつながっている。湾奥には淀川や大和川等の河川があり、人間活動による排水を多量に含む淡水が流入してきている。湾の概ね東半分は水深 20m 以浅の浅海域であり、西半分は深くなっている (Fig. 53)。

大阪湾における Chattonella 赤潮は、1977年から1979年まで3年連続して起こり、その後1982年以降1987年まで引き続いて発生が確認されている(城, 1985; 水産庁, 1985-1988)。本節では、大阪湾における Chattonella のシストの分布を調べた結果について述べる。

材料および方法

大阪湾における調査定点を Fig. 53 に示した。1985年3月20-21日に、これらの18定点でKK式柱状採泥器による採泥を実施した。St. 12では柱状採泥器による海底泥の採取ができなかったため、エクマン採泥器によって採泥を行った。明石海峡に近い St. 15 と友ヶ島水道に近い St. 18 の2点においては、エクマン採泥も不可能であり、海底泥試料は得られなかった。採取した海底泥の表面から 3cm 深までをプラスチック容器に取り、海面下 2m 層の海水を常に流している容器中に入れて研究所に持ち帰った。その後試料は、 11°C の低温恒温庫中に保存した。シストの計数には、第2章で述べた終点希釈法を用いた。湿泥 1g 当たりのシストの最確数を算出し、これに海底泥試料の見かけの比重を乗じて、湿泥 1cm^3 当たりの存在密度を求めた。

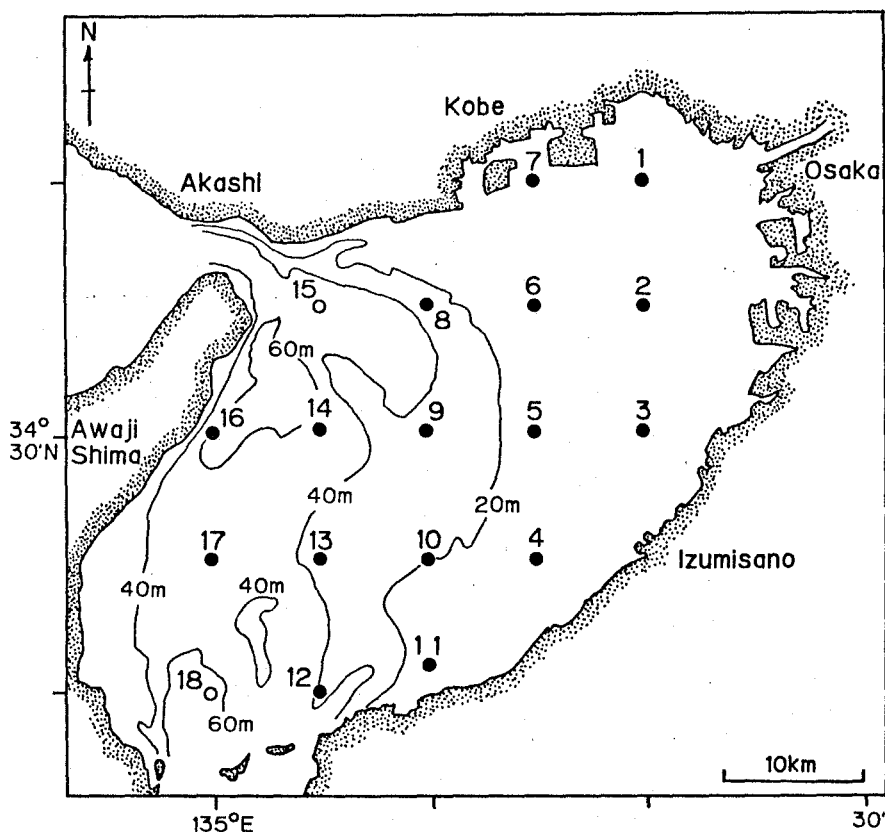


Fig.53. Location of the sampling stations in Osaka Bay, eastern Seto Inland Sea. Samples could not be collected at Sts.15 and 18, shown with open circle.

結果および考察

終点希釈法で求めた 1985 年 3 月の大阪湾における *Chattonella* のシストの分布を Fig. 54 に示した。シストの分布密度は 2-155 個 / cm^3 (平均 42 個 / cm^3) の範囲の値であった。なお、終点希釈法による計数時に観察された *Chattonella* の栄養細胞は、典型的な形態の *C. antiqua* と *C. marina* が共に認められたが、後者の方が出現頻度が高かった。

図からも明らかのように、シストの分布状態は一様ではない。50 個 / cm^3 以上の高密度域は神戸市の南沖と、湾の中央よりやや西の水域にあった。25 個 / cm^3 以下の低密度域は、湾奥の東部沿岸域、湾西部の淡路島

付近の水域、ならびに明石海峡の流動の影響があると思われる点 (St. 9) に認められた。大阪湾において赤潮が発生する場合、湾奥～東部沿岸域で赤潮生物の細胞密度が高く、湾の西部あるいは海峡周辺部で低くなる傾向があると報告されている (城, 1985)。従って、シストの高密度域と赤潮の発生する水域は殆ど一致していないことが明らかである。

湾奥の淀川河口の水は東岸に沿って南西へと流れ、泉南沖へ向かうとされている (藤原ら, 1981)。東部の湾奥に高密度で存在した栄養細胞が、このような流れに乗ってシストを形成しつつ運ばれれば、Sts. 10, 13, 14 における高密度域の存在はある程度説明できると考えられる。

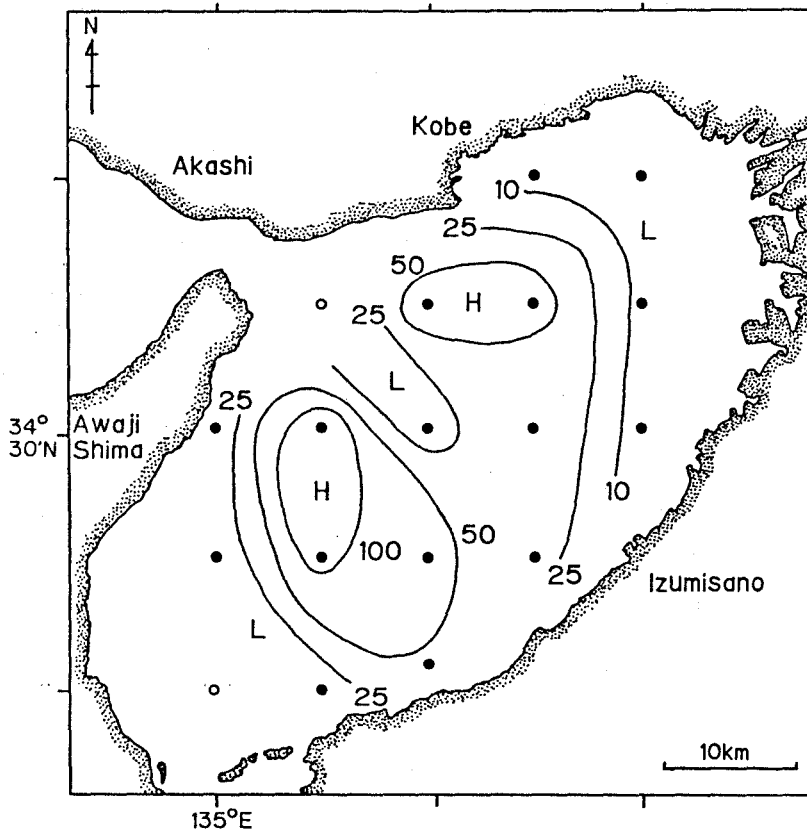


Fig.54. Distribution of cysts of *Chattonella* in Osaka Bay enumerated by the extinction dilution method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

第2節 播磨灘

播磨灘 (Fig. 55) は瀬戸内海東部に位置しており、東西約 50km、南北約 60km で、面積は 3,426km²、平均水深 25.6m の閉鎖性の強い水域である (村上, 1976)。東は明石海峡を通じて大阪湾と、南は鳴門海峡により紀伊水道と、西は備讃瀬戸へと連なっている。明石海峡と鳴門海峡の断面積を比べると前者が圧倒的に大きく、従って紀伊水道の水は主として紀淡海峡から大阪湾西部を北上し、明石海峡を通じて播磨灘へ入ると言われる (村上, 1976)。

播磨灘は海水魚類養殖の発祥の場所である (野網, 1969)。この播磨灘において、Chattonella 赤潮が初めて発生したのは 1972 年 7 月下旬から

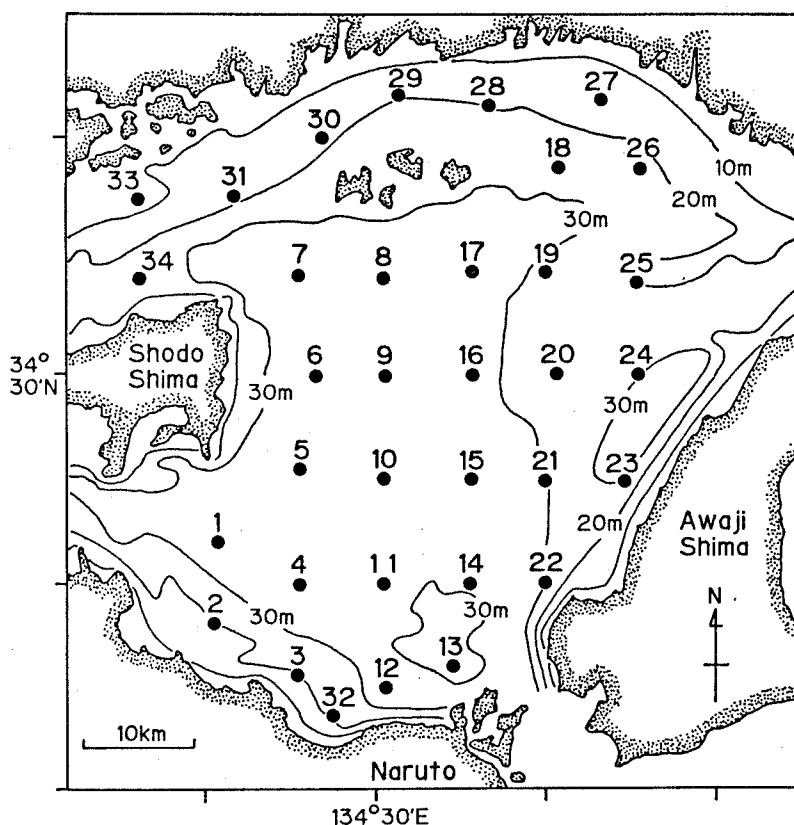


Fig.55. Location of the sampling stations in Harima-Nada, eastern Seto Inland Sea.

8月中旬にかけてであり、1,428万尾もの養殖ハマチが斃死し、被害金額も71億円を越える空前絶後の莫大な漁業被害が生じた(水産庁, 1978)。その後しばらく、Chattonella赤潮は起こらなかったが、1977年8月下旬に再度発生してからは、1978、1979年と連続した(Ono & Takano, 1980)。1980年代になって以降も、1982-1984, 1986, 1987年と頻繁に発生している(水産庁, 1983-1988)。1987年の赤潮では約174万尾の養殖ハマチが斃死し、金額にして約24億円という甚大な漁業被害が生じたこと(水産庁, 1988a)は記憶に新しい。

本節においては、播磨灘における Chattonella のシストの地理的分布を調べ、赤潮の発生水域との関連について考察を加えた。

材料および方法

播磨灘における調査定点を Fig. 55 に示した。1984年4月23-25日の調査においては、Fig. 55 の Sts. 1-32 の定点でKK式柱状採泥器による採泥を行った。その後1988年4月12-14日にも Sts. 1-34 から同様に採泥を実施した。この時の調査では St. 25 で柱状採泥ができなかったため、エクマン採泥を行った。採取した海底泥は表面から3cm深までをプラスチック容器に取り、1984年の調査時には温度11°Cに設定した低温恒温庫中に、1988年では同じ温度の低温恒温水槽中に保存して研究室に持ち帰った。その後の海底泥試料の保存は、温度11°Cに設定した低温恒温庫中で行った。

シストの計数は、1984年の試料に関しては終点希釈法(第2章第2節参照)、1988年の試料では倒立落射蛍光顕微鏡を用いた直接計数法(第4章第1節参照)によった。直接計数法の手順は概略以下の通りである。すなわち、適量の試料(1-2gの湿泥)を用いて20-100 μ mの粒子径画分の懸濁液(処理前の湿重量に換算して0.1g/ml)を調製し、その0.5ml中に含まれるシストの数を計数した。各定点の試料につき3回計数を行った。得られた値に、海底泥試料の見かけの比重を乗じて、湿泥1cm³当たりのシストの存在密度を求めた。

結 果

終点希釈法で求めた、1984年4月の播磨灘における *Chattonella* のシストの分布を Fig. 56 に示した。シストの分布密度は 5-316 個 / cm^3 (平均 57 個 / cm^3) の範囲にあった。高密度域 (50 個 / cm^3 以上) は、灘中央部の淡路島寄りの水域、香川県境に近い徳島県沿岸、ならびに家島諸島西方の兵庫県西部沿岸の St. 31 で認められた。

直接計数法によって調べた、1988年4月における総シストの分布を Fig. 57 に示した。シストの分布密度は 3 個 / cm^3 以下 ~ 723 個 / cm^3

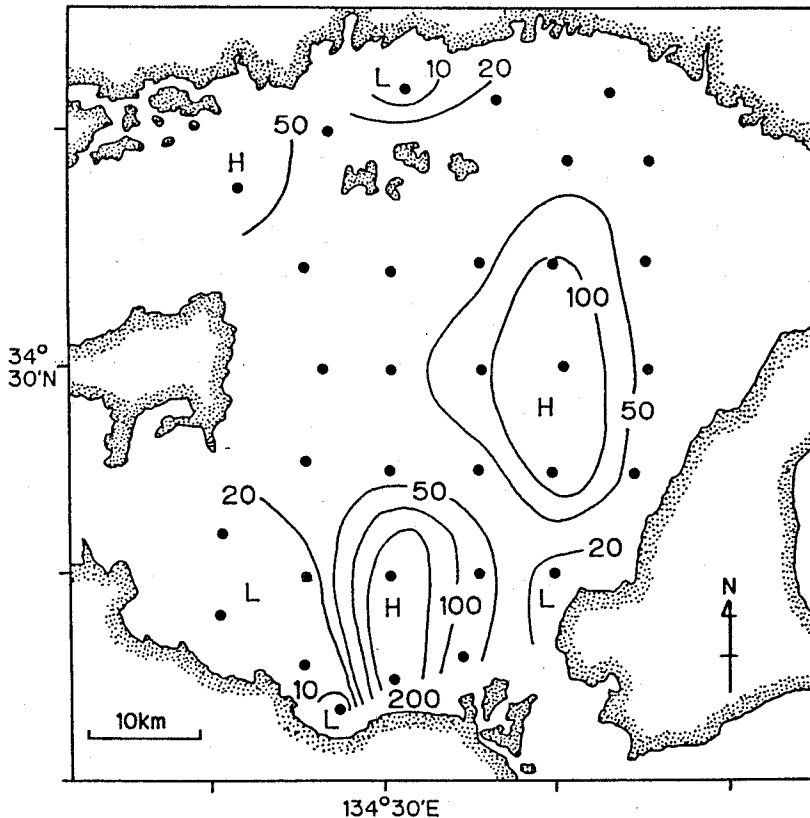


Fig.56. Distribution of cysts of *Chattonella* in Harima-Nada enumerated by the extinction dilution method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

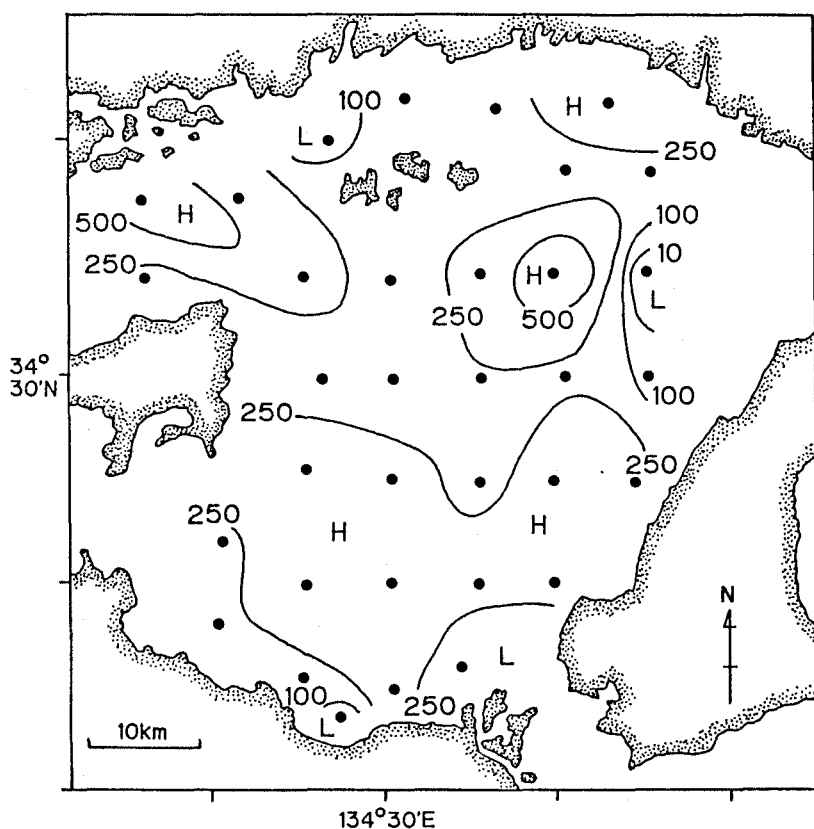


Fig.57. Distribution of cysts of *Chattonella* in Harima-Nada enumerated by the direct count method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

(最高は St. 19) の範囲にあり、平均値は 265 個 / cm^3 であった。250 個 / cm^3 以上の高密度域は、灘中央よりもやや北側の家島諸島の南東海域、灘北西部の家島諸島西方水域、灘の南半分の広範囲の水域、および北東沿岸に存在した。一方、明石海峡の流動が影響していると思われる海峡付近の定点 (St. 25) ではシストは検出されなかった。また、香川・徳島両県の県境付近の St. 32 や、家島諸島北側の St. 30 では 100 個 / cm^3 以下の低い値が検出された。しかしながら 34 定点中のうち 4 定点を除いて 100 個 / cm^3 以上の密度で検出され、一方 500 個 / cm^3 以上の高密度の定点も Sts. 19 と 33 の 2 点だけであり、比較的多くの定点においてシストの存在密度の差は小さかった。

考 察

井内 (1982) は、播磨灘を含む瀬戸内海全域で海底の音波探査を行い、約 1 万 6 千年前以後に海底に堆積した後氷期海進堆積物の層 (A 層と称する) の厚さの分布を調査した。播磨灘において A 層の厚い水域は、Fig. 56 に示した 1984 年 4 月の Chattonella のシストの濃密な 3 つの水域とよく合っていた。この A 層の堆積物は、現在の水理条件下で移動・堆積したものであり、その堆積作用は現在も進行中であると考えられている (井内, 1982)。Chattonella のシストは、当然の事ながら海水中に存在した栄養細胞を起源とし、それが海底へと沈降・堆積したものである。従って、シストの濃密な水域と A 層の厚い水域がよく一致したことは、海域における物質輸送の観点からも大変興味深い。

次に、1984 年 4 月と 1988 年 4 月のシストの分布パターンを比較してみる。1988 年の高密度域のうち、兵庫県西部～岡山県東部沿岸の水域は 1984 年の場合と概ね一致する。1984 年に灘の中央～東部に認められた高密度域は 1988 年になるとやや北方にずれ、南部沿岸にあったそれは全体に広がったような傾向が見られた。

1987 年夏季には播磨灘全域で Chattonella による大規模な赤潮が発生した (水産庁, 1988a)。参考のために上田・近藤 (1988) の調べた表層水中の栄養細胞の分布を Fig. 58 に示す。図からもわかるように、栄養細胞は若干の密度の変動はあるものの、 10^2 細胞 / ml のオーダーで灘の広い水域で検出されている。第 4 章第 1 節でも述べたように、栄養細胞の出現状況が海底泥中のシストの存在量に大きく影響すると考えられる。前述のように、1988 年 4 月のシストの分布傾向は定点間の密度差が比較的小さかった。このような結果は、1987 年夏季の栄養細胞の出現状況を反映した結果と考えられよう。

岡市ら (1983) によれば、播磨灘北部沿岸域における Chattonella 赤潮を考える際、北西部が発生点である可能性が高いという。家島諸島西方の岡山県東部～兵庫県西部沿岸の浅海域にシストの高密度域が確認されたことは、この指摘事項を裏付けるものと考えられよう。

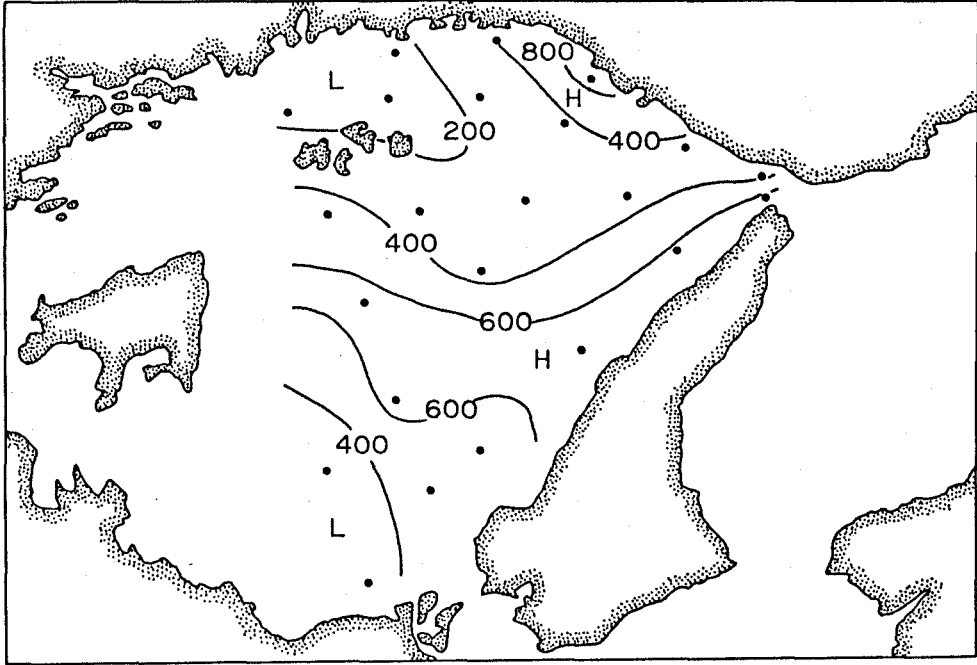


Fig.58. Distribution of vegetative cells of *Chattonella* in surface water of Harima-Nada, during a period from August 5 to 6, 1987. Numerals indicate the number of cells per milliliter. (After Ueda & Kondo, 1988)

今後の課題としては、播磨灘の南部や北西部の水域を監視水域とし、初夏の底層水温の推移と栄養細胞の出現動向をモニターすることが挙げられる。これによって、当該水域における *Chattonella* 赤潮の発生初期段階の予知に有効な資料が得られるものと期待される。

第3節 燧・備後灘

燧灘および備後灘 (Fig. 59) は瀬戸内海のほぼ中央部に位置しており、前者は面積 1,296km²、平均水深 17.8m、後者はそれぞれ 954km² と 15.5 m である (村上, 1976)。両灘共に 10-30m の平坦面が広く発達しており、東は備讃瀬戸、西は芸予海峡と通じている。両方の灘は隣接しており、調査も同時に行ったので、ここでは併せて燧・備後灘として取り扱うことにする。

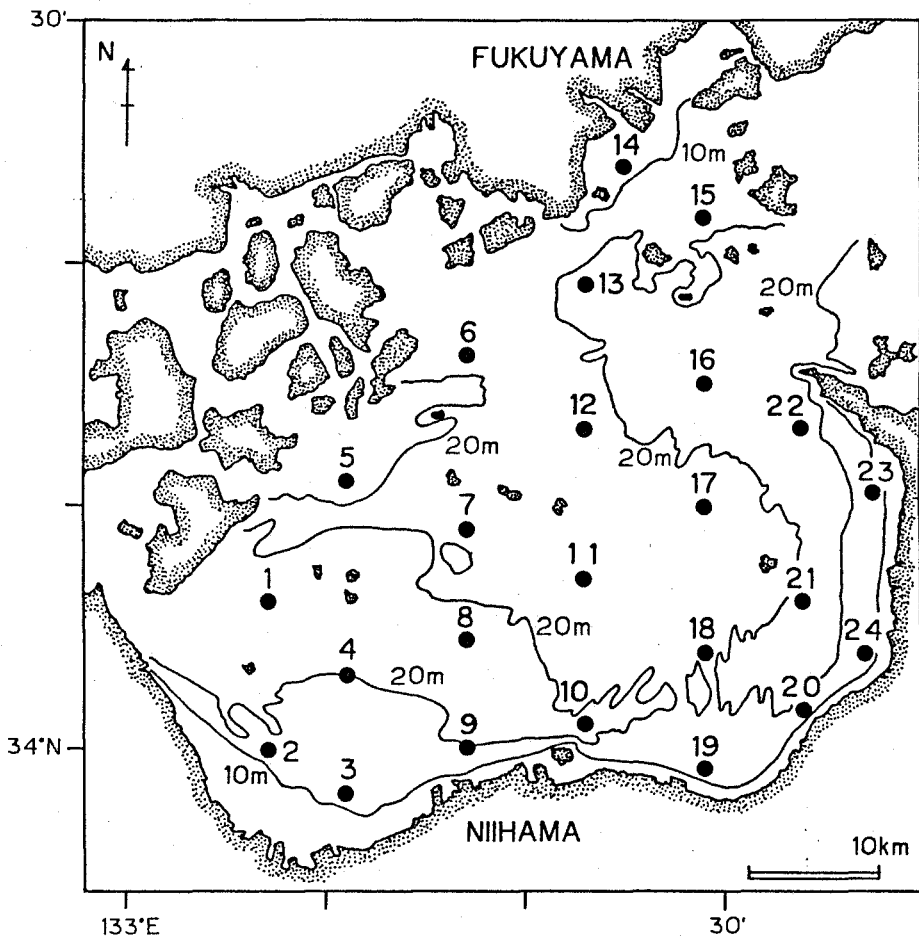


Fig.59. Location of the sampling stations in Hiuchi- and Bingo-Nada, central part of the Seto Inland Sea.

燧・備後灘における Chattonella 赤潮は、1970 年に初めて両灘の西部水域で発生して以来（矢野，1978）、燧灘海域で 1973，1977，1980，ならびに 1987 年に、備後灘海域（主に福山市近郊の沿岸域）において 1972，1979，1980，1983-1987 年に発生が確認されている（水産庁，1980-1988）。この節では、本水域における Chattonella のシストの分布についての調査結果を述べる。

材料および方法

燧・備後灘における調査定点を Fig. 59 に示した。調査は 1986 年 5 月 7-9 日に行い、図の 24 定点で K K 式柱状採泥器を用いて採泥を実施した。なお、St. 1 においては柱状採泥器による採泥ができなかったので、エクマン採泥を行った。採集した海底泥は表面から 3cm 深までをプラスチック容器に取り、温度 11°C に設定した低温恒温水槽中に保存して実験室に持ち帰った。試料はその後 11°C の低温恒温庫中で保存した。

適量（湿重量 1-2g）の海底泥試料を用いて 20-100 μ m の粒子径画分の懸濁液（処理前の湿重量に換算して 0.05 または 0.1g / ml）を調製した。シストの計数は、倒立落射蛍光顕微鏡を用いた直接検鏡法によった。すなわち、上記懸濁液 0.5ml 中に存在するシストの数を各試料につき 3 回ずつ計数した。

結果および考察

直接検鏡法によって求めた 1986 年 5 月の、燧・備後灘における Chattonella のシストの分布を Fig. 60 に示した。シストは全部の定点から見いだされ、その分布密度は 8-466 個 / cm³ の範囲の値であり、平均値は 144 個 / cm³ であった。

シストの分布密度には相当な変動があり、芸予諸島に近い燧灘西部水域、および香川県の三崎半島から北西の広島県沼隈半島へとのびる帯状の水域に 50 個 / cm³ 以下の低密度域があった。100 個 / cm³ 以上の比較的

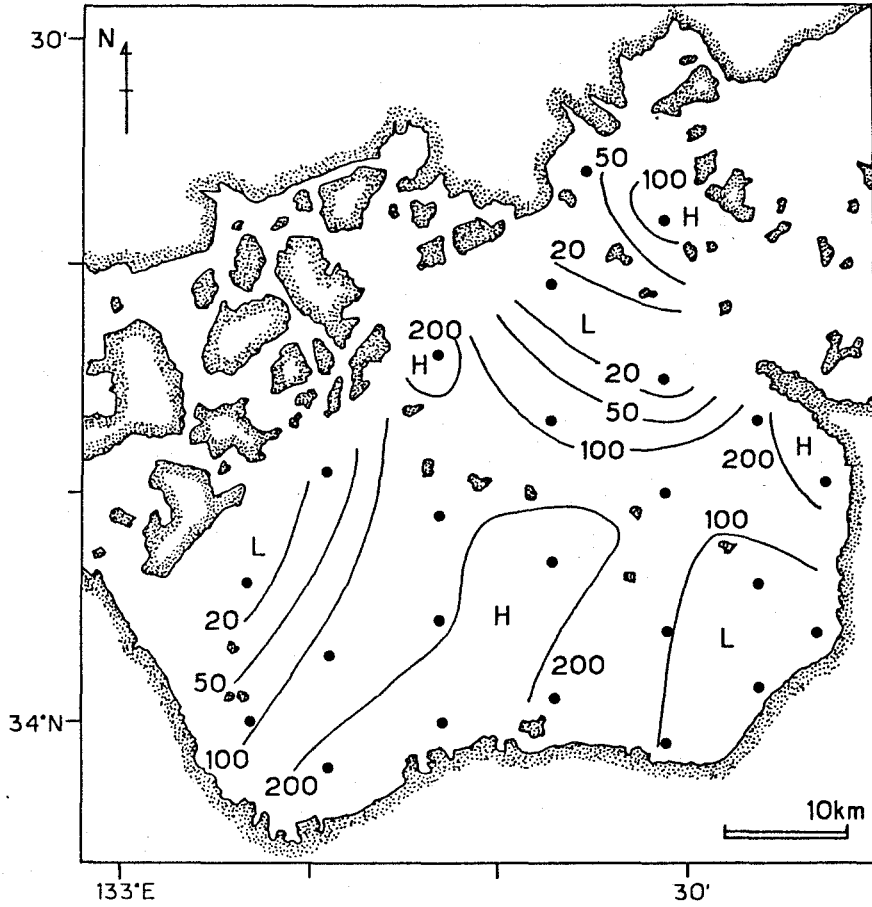


Fig.60. Distribution of cysts of *Chattonella* in Hiuchi- and Bingo-Nada enumerated by the direct count method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

高密度の水域は、燧灘の大部分の水域と福山市沖の St. 15、および備後灘西部の St. 6 に認められた。

備後灘において頻繁に赤潮の発生が確認されているのは、福山市近郊の St. 14 付近である。この定点のシストの密度は $43 \text{ 個} / \text{cm}^3$ と比較的低密度であり、その沖合の St. 15 で $194 \text{ 個} / \text{cm}^3$ のやや高い密度が観察された。また、燧灘で *Chattonella* が高密度で出現するのは St. 23 付近の水域である。このように、栄養細胞とシストの高密度域は、St. 23 付近

を除いてあまり良く一致していなかった。また、備後灘および燧灘における恒流の分布（柳・樋口，1979）とシストの分布の間には明瞭な関係を見出すことができなかった。

第4節 広島湾北部

広島湾は面積 946km²、平均水深 25.6m の二次湾である (村上, 1976)。湾の北部水域においては島が多く、また太田川、錦川、小瀬川等から多量の河川水が流入してきている。

我が国沿岸水域で初めて Chattonella 赤潮の発生が確認されたのは、この広島湾においてである。1969年8-9月に発生したこの赤潮によって、約3万尾の養殖ハマチと多くの天然魚類が斃死した (高山, 1972; 木村ら, 1973)。翌1970年8-9月にも赤潮が発生し、広島湾での養殖ハマチ約30万尾のうち25万尾もが斃死させられた (木村ら, 1973)。その後1972年8月にも小規模ながら赤潮を形成したが (高山, 1983)、それ以降赤潮は起こっていない。本節では、広島湾北部の Chattonella のシストの分布状況を調べた結果を述べる。

材料および方法

広島湾北部における調査定点を Fig. 61 に示した。図の7定点において、1987年4月27日にKK式柱状採泥器を用いて採泥を行い、各定点から5本の柱状泥を得た。これらの海底泥の表面から1cm深までをプラスチック容器に取り、温度11℃に設定した低温恒温庫中に暗所保存した。適量の試料を用いて20-100 μ mの粒子径画分の懸濁液 (処理前の湿重量に換算して0.1g/ml) を調製し、その0.5ml中に含まれるシストの数を倒立落射蛍光顕微鏡を用いて直接計数した (第4章第1節参照)。各定点の試料につき4回ずつ計数した。また、海底泥試料の培養を基本とする終点希釈法 (第2章第1節参照) による計数も併せて行った。

結果および考察

直接検鏡法によって Chattonella のシストを計数した結果、設定した

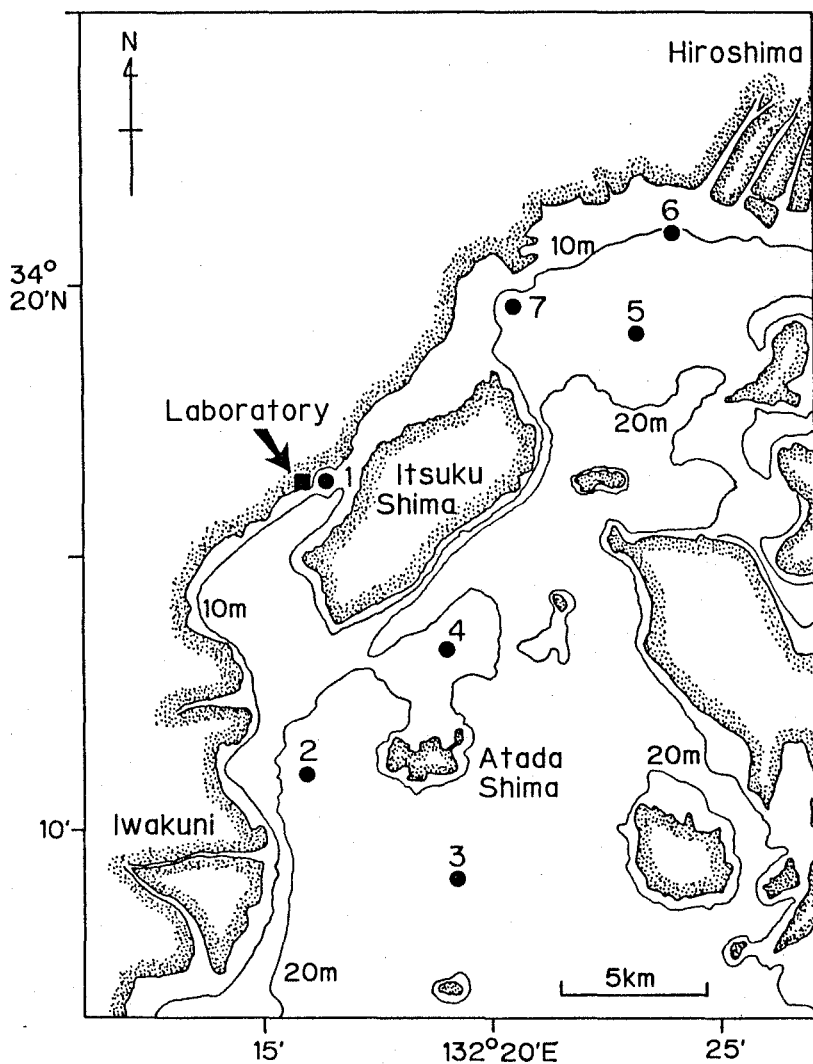


Fig.61. Location of the sampling stations in northern part of Hiroshima Bay.

7 定点の海底泥試料からは検出されなかった。他方、終点希釈法によって計数した場合、St. 2 のみから湿泥 1g 当たり 2 個の値が得られた。一方、広島湾の中央～南部において 1987 年 8 月 30 日～9 月 9 日に得られた海底泥を、10°C の冷暗所に 7 ヶ月間置いた（休眠解除処理）後に、終点希釈法によって *Chattonella* のシストが計数されている（水産庁，1988b）。その結果、分布密度は 2-60 個 / cm³ の範囲の値を示し、湾北部に比べ

てやや高い値となっている。このように、広島湾北部においては Chattonella のシストの分布密度が瀬戸内海の他の海域に比べて著しく低く、また中央～南部においてもさほど高くないことが明らかとなった。広島湾では1972年に小規模な赤潮が発生して以来、1980年8月に湾北部で 1-15 細胞 / ml の栄養細胞が検出された程度で（水産庁, 1981）、殆ど Chattonella は出現していない。このことが、シストが比較的低密度でしか存在しなかった原因と推測される。しかしながら、シストはやはり存在しており、赤潮発生の危険性が全くないというわけではないので、今後も注意を要するであろう。

第5節 鹿 児 島 湾

鹿児島湾 (Fig. 62) は南北約 75km、東西約 25km の細長い湾であり、海底の地形によって湾奥、湾中央、湾口部の3つに大別される。面積は湾奥部 250km²、中央部 576km²、湾口部で 310km² であって、湾奥部と湾中央部の間には桜島が存在し、幅約 2.5km の西桜島水道で結ばれている。鹿児島湾には水深の大きい場所が多く、湾奥部で平均 140m (最大 206m)、中央部で平均 110m (最大 237m) である。以上が鹿児島湾の概要である (桜井, 1985; 岡市, 1987)。

鹿児島湾において Chattonella による赤潮 (Noro & Nozawa, 1981) が最初に起こったのは 1977 年 6 月であり (水産庁, 1978)、その時の最高密度は 1.4×10^5 細胞 / ml にも達した (水産庁, 1978; Nakaya & Yoshida, 1984)。この赤潮によって養殖ハマチ約 118 万尾が斃死し、約 7 億円に上る漁業被害が生じた (水産庁, 1978)。その後 Chattonella 赤潮は 1978, 1982, 1984, 1985 年と断続的に発生している (九万田ら, 1986; 岡市, 1987)。

本節においては、鹿児島湾における Chattonella のシストの地理的分布を調べ、本湾での赤潮発生とシストの生理生態および海洋環境について考察を加えた。

材料および方法

鹿児島湾における調査定点を Fig. 62 に示した。調査は 1986 年 10 月 29 日～11 月 1 日の間に実施し、図の 28 定点で採泥を行った。採泥には K K 式柱状採泥器を用い、各点で 5 本採取した。底質の粗かった定点 (Sts. 2, 3, 6, 12, 15, 23) においては、S M 式採泥器による採泥を行った。採取した 5 本の柱状泥の表面から 1cm 深を取り、プラスチック容器に入れて混合した。S M 採泥の場合にはできるだけ表面の海底泥試料を採った。試料は温度約 15°C (調査時の底層水温) に設定した低温恒温水槽中

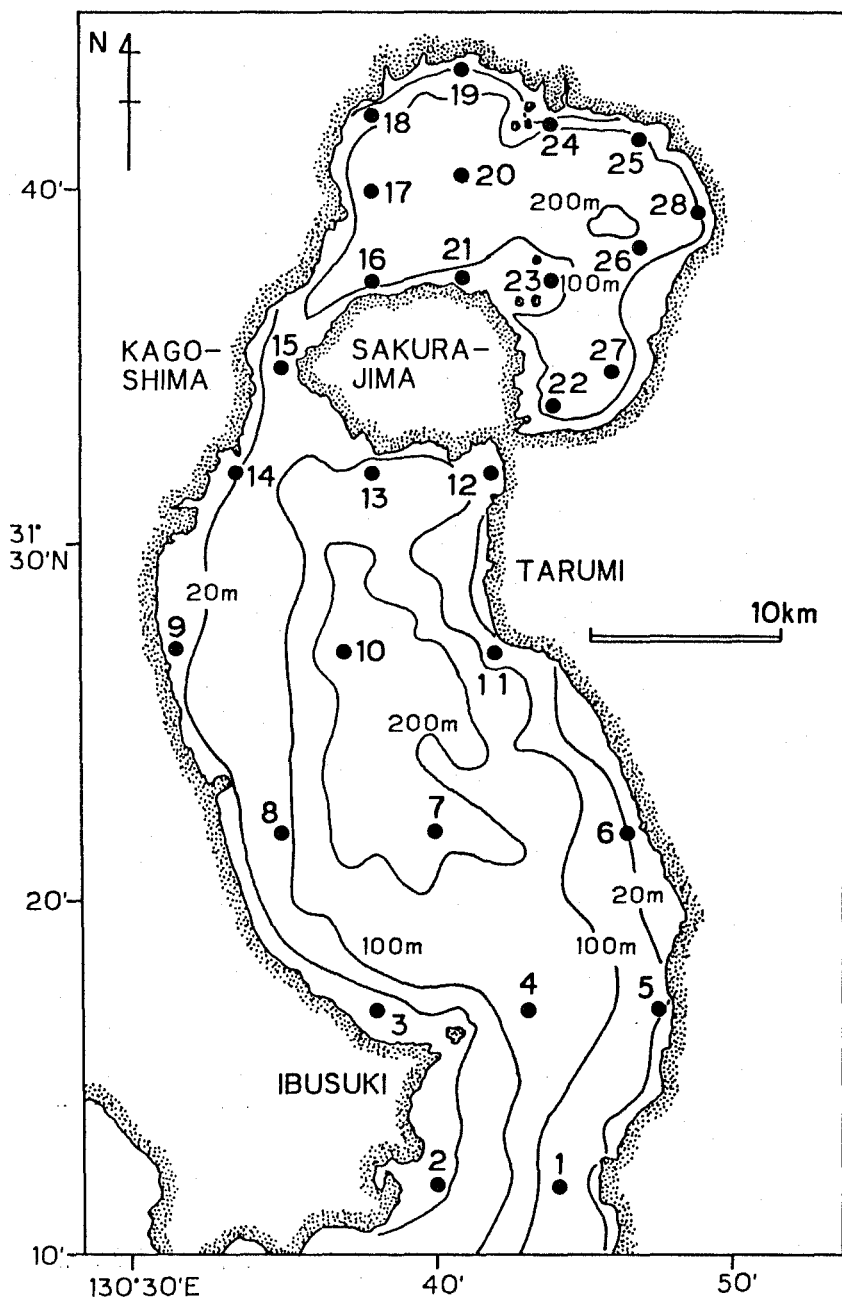


Fig.62. Location of the sampling stations in Kagoshima Bay.

に保存して実験室に持ち帰り、その後 11°C の低温恒温庫中に暗所保存した。5 定点 (Sts. 7, 12, 15, 19, 22) においては 0, 5, 10m 層から採水し、採水当日中に検鏡観察を行って、海水中の Chattonella 栄養細胞の有無を確認した。

海底泥試料中のシストの計数は、倒立落射蛍光顕微鏡を用いる直接検鏡法によった。適量の試料を用いて、20-100 μ m の粒子径画分の懸濁液を調製し、各試料につき 2 回計数を実施した。

結果および考察

直接検鏡法によって求めた、鹿児島湾における Chattonella のシストの分布を Fig. 63 に示した。シストの存在密度が低くて検出できなかったのは、Sts. 3, 15, 17, 19, 21 の沿岸域の 5 定点であった。最高値は湾奥部の St. 26 (653 個 / cm^3) で認められた。湾全体の 28 定点における単純平均値は 65 個 / cm^3 と計算される。

シストの分布状態は一様でなく、100 個 / cm^3 以上の高密度域は、湾口に近い St. 4 (水深 109m、149 個 / cm^3)、および湾奥東部の 4 定点 (Sts. 24, 26, 27, 28、水深 98-152m) で認められた。このように、シストの高密度域は概ね水深の深い所に見いだされる傾向があった。一方、湾中央部においては、水深 200m 以上の定点 (Sts. 7, 10) でもシストは低密度でしか存在しなかった (20 個 / cm^3 以下)。また、比較的浅い定点 (St. 5, 32m; St. 9, 23.5m; St. 18, 31m) では、50 個 / cm^3 以上のシストが確認された。鹿児島湾における Chattonella のシストの分布は、相当複雑な様相を呈している。

鹿児島湾において Chattonella 赤潮が起こるのは、湾中央部の北部水域および湾奥部である。例えば 1985 年 6 月の赤潮は、鹿児島市谷山地先から垂水港を結ぶ線より湾奥部で発生した (九万田ら, 1986)。とくに湾奥部の最も奥まった南東部の水域 (Fig. 62 の St. 22 付近) では、1977 年 6 月の赤潮発生時に約 1.4×10^5 細胞 / ml の極めて高い密度が観察さ

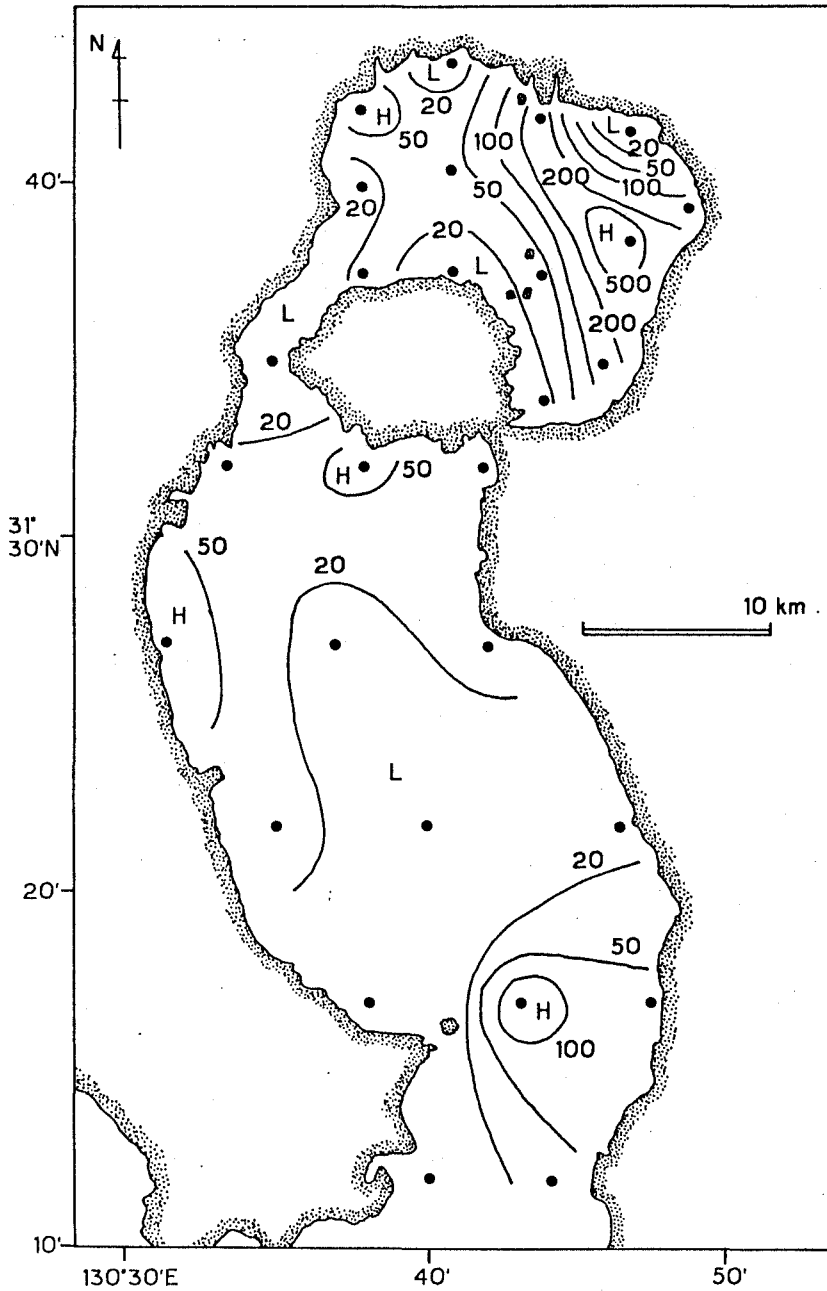


Fig.63. Distribution of cysts of *Chattonella* in Kagoshima Bay enumerated by the direct count method. Numerals indicate the number of cysts per cubic centimeter wet sediment.

れている（水産庁，1978）。栄養細胞のこのような分布状況を参照した場合、湾奥部のシストの高密度域は栄養細胞の分布と比較的良く合うようである。しかし、最もシストが多いと予想された St. 22 においては、直接検鏡法でシストは検出できなかった。また、湾口部付近のシストの高密度域の形成過程は、潮流による物質輸送の観点から興味深い問題であると思われる。

今回の調査時に、前述の5定点において採取した海水を検鏡観察した結果、Chattonella の栄養細胞が湾中央部の St. 7 を除く湾奥部を中心として確認された。この時の表層水温は 22°C 付近であり、栄養細胞の増殖や生存には充分（矢持，1984a）であった。また九万田ら（1987）によれば、湾奥部において 1986 年3月中旬の水温 14°C 台の時に 1-2 細胞 / ml、4月中旬の水温 15.5-17.0°C の時に 1-4 細胞 / ml の密度で C. marina が見いだされている。このように、鹿児島湾においては海水中の栄養細胞が瀬戸内海に比べて幅広い季節に見いだされている。鹿児島湾では冬季でも水温が 14-15°C と比較的高い（九万田ら，1987）ので、生存限界温度（矢持，1984a）を考慮した場合、Chattonella は栄養細胞のまま越冬できる可能性が充分ある。この問題については今後の詳しい調査が待たれる。

一方、シストは鹿児島湾の海底泥から実際に確認された。休眠しているシストの多くは 11°C 以下の温度でその休眠が解除され、15-18°C でもある程度解除される（第2章、Fig. 11）。また成熟して発芽準備の完了しているシストは、少ないながら 15°C でも実際に発芽できる（第2章、Figs. 4, 8）。さらに、発芽能力を持っているシストは、海底泥への埋没等によって発芽できなかった場合、15°C 以上の温度条件下では再度休眠状態になってしまう（第2章、Fig. 18）。

鹿児島湾における海底付近の季節的な温度変化をみると、1976-1978 年の場合、水深が概ね 100m 以上の深い場所では年間を通じて 14-18°C の範囲で変化し、沿岸部の約 50m より浅い場所では寒冷期（冬～春）で 15°C 前後、暖期（夏～秋）には 20°C 以上に達する（鹿児島県水試，1978-

1980)。

上述の、温度に対するシストの生理的反応、および鹿児島湾における底層水温の推移を参照するならば、以下のような考察が可能となる。海水中の栄養細胞がシストを形成して深い水域に沈降していった場合、14-18℃前後の温度を1年中経験することになる。このような温度範囲で、シストの一部分は休眠が解除されて発芽可能になり、少数ながら実際に発芽すると想定される。しかし一方で、発芽の機会を得られなかったシストは再度休眠状態になっていくと推定される。また水中の栄養細胞は、幅広い季節に確認されており、シスト形成も年間の長期間にわたって起こっている可能性がある。以上から、深い水域においては、シストの発芽が年中起こっていることが可能性として考えられる。

他方、浅い水域に存在するシストは、秋～冬にかけて自発的休眠の期間を過ごし、15℃付近の低温期を経験して、春以降に発芽可能な状態になると思われる。このような場合では、瀬戸内海における Chattonella のシストと挙動が類似することになるろう。

以上述べてきたように、鹿児島湾における Chattonella 赤潮の seed population を考えた場合、瀬戸内海とは様相が相当異なっているようである。すなわち seed population として、①栄養細胞のままで越冬した個体群、②深い水域に存在するシストの1年を通じての発芽、③浅い水域にあるシストの暖期における発芽、が挙げられる。大阪湾での Heterosigma akashiwo による赤潮の発生機構において、Yamochi (1984) は seed population として越冬した栄養細胞および海底泥中の "benthic cells" の両方が共に重要であると報告している。上述のように鹿児島湾においては Chattonella 赤潮の発生源が種々想定されたが、どれが最も重要であるのか、あるいは複合的に働き合っているのか等については、今後の調査研究に説明が待たれている。

第6章 総 括

現在の日本国民の水産物需要は、沿岸性中高級魚介類を指向する傾向がある。このような需要を受け、ハマチやタイ等の比較的価格の高い魚類を対象とした海面養殖漁業が着実に生産量を伸ばしてきている。

瀬戸内海を中心とする西日本沿岸域は、養殖漁業の盛んな水域である。しかし、瀬戸内海においては 1969 年以降 Chattonella による赤潮が頻発し、ハマチの大量斃死等の大被害が生じるようになってきている。特に 1972 年夏季の播磨灘で発生した Chattonella 赤潮は、1,428 万尾ものハマチの斃死と 71 億円以上もの大被害を与えた。その後も数十億円規模の被害を生ずる赤潮が続発している。

これまで Chattonella 赤潮の被害防止や発生予知等を目的とし、発生機構解明のための研究が多く研究者によって多方面から展開されてきた。しかしながら、シストの時期を含む Chattonella 自身の生活史は全く不明であり、その解明が永く待たれていた。

著者は、以上のような背景から、越冬形態であるシストの形態確認、および赤潮発生における seed population としてのシストの生態的役割の解明を目的として本研究を遂行した。得られた成果の概要は以下の通りである。

1. 海底泥中における Chattonella のシストの存在について予備的な検討を行い、海底泥試料を海水中で培養すると Chattonella の栄養細胞が出現してくることをまず確認した。海底泥の 20-100 μ m の粒子径画分にシストは多く存在し、22 $^{\circ}$ C の温度条件下では 1 週間以内に多くのシストが発芽した。

次にシストの計数法に検討を加え、終点希釈法 (MPN 法) が有効であることが判明した。この方法でシストの発芽に与える温度の影響を調べたところ、10 $^{\circ}$ C では発芽せず、15-30 $^{\circ}$ C で発芽可能であった。発芽は 20 $^{\circ}$ C

で活発になり、22 と 25°C で最適、30°C で減少した。春に採取した海底泥中のシストは 11°C の暗条件下で少なくとも 15 ヶ月間発芽能力を維持した。これらの成果に基づいて、Chattonella のシストの発芽を評価する方法を確立した。

2. シストの休眠や成熟（休眠が解除され発芽可能になる）に及ぼす温度の影響と、現場海底泥中のシストの発芽の季節性を調べた。秋の時点で大部分のシストは休眠状態であり、発芽しなかった。海底泥試料を温度 20°C 以上で保存するとシストは殆ど成熟せず、11°C 以下で発芽能力を獲得した。15 と 18°C は臨界的であり、一部分のシストが成熟した。温度 22°C で保存した海底泥試料を途中で 11°C へと移すと多くのシストが4ヶ月で発芽可能になった。以上からシストの成熟には 11°C 以下の低温期間が約4ヶ月間以上必要であることが明らかとなった。

現場（周防灘）海底泥中のシストは発芽に関して著しい季節性を示した。1月には発芽可能なシストは少ないが、4月になると著しく増加した。発芽能力は7月中旬頃まで維持され、8月中に発芽できるシストの数は急速に減少した。11月にはシストは休眠状態になっていた。なお、1月の海底泥試料を 11°C に置くと時間の経過と共にシストは成熟していった。

以上の結果から、シストの休眠、成熟、発芽を含めた Chattonella の年間の生活様式が明らかになった。すなわち、海底のシストは底層水温が発芽に適した温度（20°C 前後）に達する初夏に発芽する。発芽した栄養細胞は夏季に表層水中で増殖し、一方でシストを形成する。その後海底へ沈降したシストはそこで自発的休眠の期間を過ごす。この休眠の解除には約4ヶ月間以上の低温条件を要するので、秋にはシストは発芽しない。低水温の冬季にシストの休眠解除が進行し、春になると休眠を終えて成熟シストとなる。なお、瀬戸内海では栄養細胞での越冬は不可能である。春から初夏までは底層水温が低すぎるために発芽できず、シストは後休眠を余儀なくされる。その後底層水温が上昇するとシストは発芽することになる。

3. 正常に発芽できるシストを多く含んでいる海底泥試料を 22℃ (夏季の海底温度を想定) に置くと、2ヶ月以内に休眠状態になったが、11℃の低温 (冬を想定) へと置き換えると多くのシストは約4ヶ月で再び成熟した。この結果は、海底泥中への埋没等で夏季に発芽の機会を逸したシストも再度休眠して (二次休眠) 生き残ることができ、翌年以降に持ち越されることを示している。またシストの休眠誘導は 20℃ 以上で起こり、11℃ 以下では起こらず、15-18℃ は臨界的な温度域であった。

4. 海底泥中のシストの探索法を工夫して、これまで全く不明であった Chattonella のシストを見だし、その形態を明らかにした。発芽前のシストは黄緑色～茶色を呈し、砂粒や珪藻の被殻等に付着しているものが多く、単独あるいは数個の塊状で存在していた。シストの内部には数個の濃褐色～黒色の斑点が認められ、外壁は厚さ 1μm 以下、平滑で装飾物はない。シストの背面観は径約 25-35μm の円ないし楕円形、側面観は高さ約 15-25μm の概ね半円形をしていた。後に発芽するための構造があり、発芽後の空シストにはこの部位に径約 7μm の円形の開口部が観察された。発芽は、この構造を細胞が単純に抜け出て数秒内に終了した。発芽後 24 時間以内の栄養細胞は大きさや色調がシストに近いが、その後通常の細胞の大きさと色調になった。なお、重要種である C. antiqua と C. marina のシストは形態が酷似しており、形態に基づく両種の識別は不可能であった。

5. 培養条件下において Chattonella のシスト形成を試みたところ、C. marina で成功した。窒素源として低濃度のアンモニウム塩を用いた培地中で栄養細胞を 8-10 日間培養後、約 1,000 lx 以下の低照度や暗条件下に置くことでシスト形成は起こった。4ヶ月間以上の低温 (11℃) 処理後、22℃ 光条件下でシストの発芽が確認された。

6. Chattonella 赤潮の発生に関与するシストの生態的役割を現場で評価

するため、周防灘を対象水域として調査を実施した。灘におけるシストの地理的な分布状態を見ると、灘の中央～東部の水深の大きい沖合域に高密度域が、西～南部の沿岸域に低密度域が認められた。直接検鏡法で計数した海底泥中のシストの存在密度は 1986 年 3 月で 0-787 個 / cm^3 (平均 125 個)、1987 年 6 月は 0-490 個 / cm^3 (平均 91 個) の範囲であった。シストの高密度域と夏の赤潮発生域は一致しなかった。海底泥中のシストの存在量は、海水中の栄養細胞の出現状況によって大きく影響されることがわかった。鉛直的なシストの分布を見ると、表層 3cm 深までに多く分布するが、9-10cm の深層からも検出された。

7. 1984-1987 年の夏季に実施した現場調査の結果によると、Chattonella が卓越したのは 1984 と 1987 年であり、1985 と 1986 年は渦鞭毛藻の Gymnodinium nagasakiense が卓越した。海底泥表層中の成熟したシストの数は、1985-1987 のどの年も、6 月下旬と 7 月中旬の間で大差はなく、8 月に減少していった。1987 年の場合、海水中の Chattonella の栄養細胞は 6 月下旬に比べて 7 月中旬の方が格段に多かった。この結果から、周防灘においては実際に発芽しているシストは表層泥中の一部のものであり、しかも一斉発芽は起こってないと推定された。シストの発芽は沿岸域を始まりとして、順次沖合域へと発芽する場所を拡大して行き、灘全体としてはかなり長期間発芽が継続しているものと思われる。Chattonella のシストのこのようなやり方は、一斉発芽に比べると、増殖に好適な環境条件と遭遇する機会を長期間伺うことができ、さらには発芽時に不適な環境であった場合も大部分は危険回避ができるので、種の生存戦略としてより優れていると考えられる。

8. 瀬戸内海の諸水域 (大阪湾、播磨灘、燧・備後灘、広島湾北部) および鹿児島湾における Chattonella のシストの分布を明らかにした。

大阪湾 (1985 年 3 月採泥) において終点希釈法で求めたシストの分布密度は 2-155 個 / cm^3 (平均 42 個) であり、シストの高密度域と赤潮発

生域は一致しなかった。

播磨灘における 1984 年 4 月（終点希釈法）と 1988 年 4 月（直接検鏡法）のシストの分布を調べた。1984 年の分布密度は $5\text{--}316$ 個 / cm^3 （平均 57 個）、1988 年は $0\text{--}723$ 個 / cm^3 （平均 265 個）であった。シストの高密度域は、現在も堆積作用が進行中と考えられる後氷期海進堆積物の層の厚い水域と良く合っていた。

燧・備後灘の 1986 年 5 月におけるシストの分布を直接検鏡法で調べたが、 $8\text{--}466$ 個 / cm^3 （平均 144 個）の範囲の値を示した。シストの高密度域は、栄養細胞の多く出現する水域とあまり良く一致しなかった。

広島湾北部においては 1987 年 4 月に調査を行い、終点希釈法と直接検鏡法の両法でシストの分布を調べたが、分布密度は極めて低く、1 点から 2 個 / g（湿泥）の値が得られただけであった。

鹿児島湾の 1986 年 10-11 月における、直接検鏡法で計数したシストの分布密度は、 $0\text{--}653$ 個 / cm^3 （平均 65 個）の範囲であった。鹿児島湾での季節的な水温変化およびシストの生理生態を考え合わせると、瀬戸内海の場合と相当に様相が異なり、赤潮発生の seed population として①越冬した栄養細胞、②深い水域のシストの年中の発芽、③浅い水域のシストの暖期の発芽、等が考えられた。

以上によって得られた結果から、Chattonella 赤潮の発生にはシストが極めて重要な役割を演じていることが示された。シストの生理生態を考慮し、赤潮の開始から終焉に至る Chattonella の生物的過程（シストの発芽、栄養細胞の増殖、シスト形成、シストの二次休眠等）と、これらの過程に関与すると想定される種々の要因を模式化し、Fig. 64 に示した。

シストの分布はシスト形成時の潮流によって大きく影響されるであろう。冬季の北西季節風は瀬戸内海の通過流と物質輸送に大きくかかわっており（藤原・肥後，1986）、播磨灘や周防灘等におけるシストの分布や灘内の保持に影響を与えている可能性がある（柳，1987；伊藤・今井，1988）。赤潮の初期過程であるシストの発芽には、底層水温が大きく作用する。著

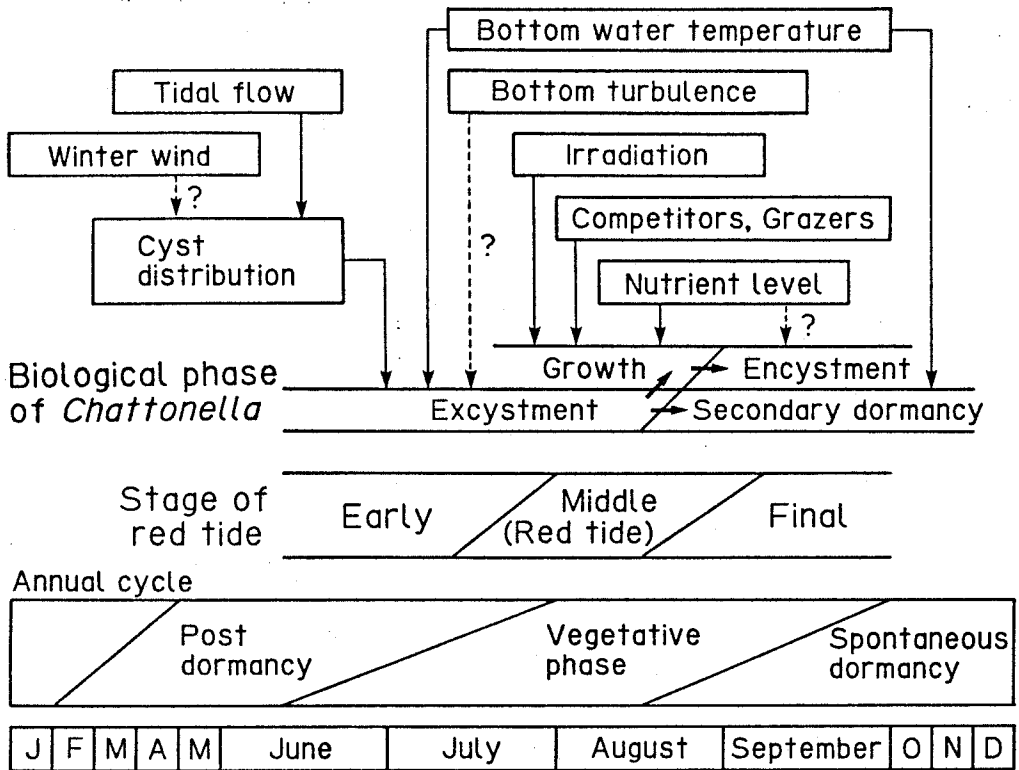


Fig.64. A schematic representation of sequential biological phase of *Chattonella* and the factors affecting the red tide development.

しい海底の擾乱があれば、シストの巻き上がりや、埋没シストの海底泥表面への持ち上がり等が起こり、より多くのシストに発芽の機会が与えられることになろう。発芽して海水中に出てきた栄養細胞にとっては、その時の環境条件が重要である。第4章第3節で考察したように、発生初期の競争者が *G. nagasakiense* であった場合は日照時間が *Chattonella* のその後の消長に相当影響すると考えられる。夏も終わりに近付くとシスト形成が進行し、一方海底泥中に埋没したりで発芽の機会を逸したシストも、上昇した底層水温によって二次休眠へと入って行くことになる。このようなシストは発芽せずに翌年まで海底で休眠して過ごすことになり、その夏～秋にはもはや seed population として機能せず、赤潮の季節を終えてしまうであろう。

Chattonella による赤潮は被害額が断然大きく、また有効な直接的被害防止対策も殆ど無いため、赤潮の発生予知に大きな関心と期待が寄せられている。現在、発生予知の実用化を目指して予知指標の改良の努力（水産庁，1987）がなされており、本研究において得られた知見も予知精度の向上に向けて、将来的に検証を通じて検討されるべきであろう。

謝

舌辛

本稿をまとめるにあたり、懇篤なる御指導と御鞭撻を賜った京都大学農学部 石田祐三郎教授、前南西海区水産研究所赤潮部長 安楽正照博士（現海外漁業協力財団）、ならびに南西海区水産研究所赤潮生物研究室長 伊藤克彦博士に、深甚なる感謝の意を表すると共に、本論文について御助言と御校閲の労を賜った京都大学熱帯農学専攻 吉田陽一教授に深厚な謝意を表します。

また、本研究の推進にあたり、有益な御助言を賜った三重大学生物資源学部 岩崎英雄教授、ならびに広島大学生物生産学部 遠部 卓教授に衷心より感謝します。

現場調査を実施するにあたり、有益な情報と御助言を戴いた福岡県豊前水産試験場の寺田和夫、神菌真人の両氏、徳島県水産試験場の秋月友治、北角 至、吉田正雄の各氏、香川県水産試験場の小野知足博士と同赤潮研究所の吉松定昭氏、鹿児島県水産試験場の九万田一巳、武田健二、荒牧孝行の各氏、および大分県浅海漁業試験場の田森裕茂氏に深く感謝の意を表します。

さらに、試料の採集にあたって海上作業に御協力戴いた南西海区水産研究所調査船 “しらふじ丸” の乗組員各位、および調査船 “せと” の後藤幹夫技官に厚く御礼申し上げます。

本研究に対し、多くの御協力と有益な御意見を戴いた南西海区水産研究所赤潮環境部の山口峰生、板倉 茂の両研究員、ならびに松尾 豊博士に深謝します。本研究の遂行に献身的な御協力を戴いた折本圭子氏に、記して感謝の意を表します。

- 秋月友治・北角 至・吉田正雄 (1981). 播磨灘南部海域における赤潮発生環境に関する研究—Ⅱ, pp. 61-77. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和 55 年度研究成績報告書. 南西水研他.
- 秋月友治・北角 至・吉田正雄 (1982). 播磨灘南部海域における赤潮発生環境に関する研究—Ⅲ, pp. 51-65. 大規模赤潮の形成及び赤潮被害抑止に関する研究, 昭和 56 年度研究成績報告書. 南西水研他.
- Anderson, D. M. (1980). Effects of temperature conditioning on development and germination of Gonyaulax tamarensis (Dinophyceae) hypnozygotes. *J. Phycol.*, 16, 166-172.
- Anderson, D. M., D. G. Aubrey, M. A. Tyler & D. W. Coats (1982a). Vertical and horizontal distributions of dinoflagellate cysts in sediments. *Limnol. Oceanogr.*, 27, 757-765.
- Anderson, D. M., S. W. Chisholm & C. J. Watras (1983). Importance of life cycle events in the population dynamics of Gonyaulax tamarensis. *Mar. Biol.*, 76, 179-189.
- Anderson, D. M., D. W. Coats & M. A. Tyler (1985a). Encystments of the dinoflagellate Gyrodinium uncatenum: Temperature and nutrient effects. *J. Phycol.*, 21, 200-206.
- Anderson, D. M. & B. A. Keafer (1985). Dinoflagellate cyst dynamics in coastal and estuarine waters, pp. 219-224. In "Toxic Dinoflagellates" (eds. Anderson, D. M., A. W. White & D. G. Baden). Elsevier, New York.
- Anderson, D. M. & B. A. Keafer (1987). An endogenous annual clock in the toxic marine dinoflagellate Gonyaulax tamarensis. *Nature*, 325, 616-617.
- Anderson, D. M., D. M. Kulis, J. A. Orphanos & A. R. Ceurvels (1982b). Distribution of the toxic dinoflagellate Gonyaulax tamarensis in the southern New England region. *Est. coast. Shelf Sci.*, 14, 447-458.
- Anderson, D. M., D. M. Kulis & B. J. Binder (1984). Sexuality and

- cyst formation in the dinoflagellate Gonyaulax tamarensis: Cyst yield in batch cultures. J. Phycol., 20, 418-425.
- Anderson, D.M., J.J. Lively, E.M. Reardon & C.A. Price (1985b). Sinking characteristics of dinoflagellate cysts. Limnol. Oceanogr., 30, 1000-1009.
- Anderson, D.M. & F.M.M. Morel (1979). The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic Gonyaulax tamarensis hypno-cysts. Est. coast. mar. Sci., 8, 279-293.
- Anderson, D.M., C.D. Taylor & E.V. Armbrust (1987). The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. Limnol. Oceanogr., 32, 340-351.
- Anderson, D.M. & D. Wall (1978). Potential importance of benthic cysts of Gonyaulax tamarensis and G. excavata in initiating toxic dinoflagellate blooms. J. Phycol., 14, 224-234.
- 安楽正照 (1985). 環境調査とプランクトン (26) 赤潮の発生予知-1. 海洋と生物, No. 38, 183-188.
- 安楽正照 (1985). 環境調査とプランクトン (27) 赤潮の発生予知-2. 海洋と生物, No. 39, 302-307.
- 安楽正照 (1987). 赤潮の調査, pp. 22-35. 赤潮生物研究指針 (日本水産資源保護協会 編). 秀和, 東京.
- 有賀祐勝・横浜康継 (1979). 環境要因の測定, pp. 436-453. 藻類研究法 (西澤一俊・千原光雄 編). 共立出版, 東京.
- Binder, B. J. & D.M. Anderson (1986). Green light-mediated photo-morphogenesis in a dinoflagellate resting cyst. Nature, 32, 659-661.
- Chen, L. C. M., T. Edelstein & J. McLachlan (1969). Bonnemaisonia hamifera Hariot in nature and in culture. J. Phycol., 5, 211-220.
- Coats, D. W., M. A. Tyler & D.M. Anderson (1984). Sexual processes in the life cycle of Gyrodinium uncatenum (Dinophyceae) : A morphogenetic overview. J. Phycol., 20, 351-361.
- Coleman, A. W. (1982). The nuclear cell cycle in Chlamydomonas (Chlorophyceae). J. Phycol., 18, 192-195.

- Dale, B. (1977). Cysts of the toxic red-tide dinoflagellate Gonyaulax excavata (Braarud) Balech from Oslofjorden, Norway. Sarsia, 63, 29-34.
- Dale, B. (1983). Dinoflagellate resting cysts : "benthic plankton", pp.69-136. In "Survival strategies of algae" (ed. Fryxell, G. A.). Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Davis, C. O., J. T. Hollibaugh, D. L. R. Seibert, W. H. Thomas & P. J. Harrison (1980). Formation of resting spores by Leptocylindrus danicus (Bacillariophyceae) in a controlled experimental ecosystem. J. Phycol., 16, 296-302.
- Drouet, F. & A. Cohen (1935). The morphology of Gonyostomum semen from Woods Hole, Massachusetts. Biol. Bull. mar. biol. Lab., Woods Hole, 68, 422-439.
- 遠藤拓郎・長田 宏 (1984). 渦鞭毛藻 Peridinium sp. のシストの休眠と発芽. 日本プランクトン学会報, 31, 23-33.
- French, F. W. & P. E. Hargraves (1980). Physiological characteristics of plankton diatom resting spores. Mar. Biol. Lett., 1, 185-195.
- 藤伊 正 (1975). 植物の休眠と発芽. 107pp. 東京大学出版会, 東京.
- 藤沢邦康・三宅与志雄 (1982). Chattonella antiqua の増殖に及ぼす環境因子の効果について. 岡山水試事報 (昭和 56 年度), 168-170.
- 藤沢邦康・三宅与志雄 (1983). Chattonella antiqua の増殖に及ぼす鉄・マンガンの効果について. 岡山水試事報 (昭和 57 年度), 22-24.
- 藤原建紀・橋本英資・山崎宗広 (1981). 東部瀬戸内海における潮汐, 潮流, 拡散の相似性について. 中国工業技術試験所報告, No. 13, 1-35.
- 藤原建紀・肥後竹彦 (1986). 瀬戸内海の通過流と物質輸送に対する風の効果. 沿岸海洋研究ノート, 23, 109-119.
- 福岡県豊前水産試験場 (1984-1987, 印刷中). 海洋・気象観測資料, No. 23-26+.
- 福代康夫 (1982). 日本沿岸における Protogonyaulax の分類と生態に関する研究. 220pp. 東京大学学位論文.
- 福代康夫 (1987). 生活史, pp. 53-61. 赤潮の科学 (岡市友利 編). 恒星社厚生閣, 東京.

- 福代康夫・渡辺 信・渡辺正孝 (1982). 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽 II. Protogonyaulax tamarensis と P. catenella におけるシストの発芽の季節性. 国立公害研究所研究報告, No. 30, 43-52.
- 古城方和・森口祐三・北村弘行 (1985). 播磨灘における Chattonella 赤潮の形成に及ぼす細菌の影響. 醗酵工学, 63, 61-69.
- Garrison, D.L. (1981). Monterey Bay phytoplankton. II. Resting spore cycles in coastal diatom populations. J. Plankton Res., 3, 137-156.
- Garrison, D.L. (1984). Planktonic diatoms, pp.1-17. In "Marine plankton life cycle strategies" (eds. Steidinger, K.A. & L.M. Walker). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Gucluer, S.M. & M.G. Gross (1964). Recent marine sediments in Saanich Inlet, a stagnant marine basin. Limnol. Oceanogr., 9, 359-376.
- Hada, Y. (1974). The flagellata examined from polluted water of the inland Sea, Setonaikai. Bull. Plankton Soc. Japan, 20, 112-125.
- 浜本俊作・吉松定昭・山田達夫 (1979). 夜間連続観測調査, pp.33-47. 昭和 53 年6月発生ホルネリア赤潮に関する調査報告書. 香川県.
- 原 慶明・千原光雄 (1982). 日本産ラフィド藻シャットネラ (Chattonella) の微細構造と分類. 藻類, 30, 47-56.
- 原 慶明・千原光雄 (1987). ラフィド藻, pp.544-566. 赤潮生物研究指針 (日本水産資源保護協会 編). 秀和, 東京.
- Hara, Y., I. Inouye & M. Chihara (1985). Morphology and ultra-structure of Olisthodiscus luteus (Raphidophyceae) with special reference to the taxonomy. Bot. Mag., Tokyo, 98, 251-262.
- Hargraves, P.E. & F. French (1975). Observations on the survival of diatom resting spores. Nova Hedw. Beiheft., 53, 229-238.
- Hargraves, P.E. & F.W. French (1983). Diatom resting spores : significance and strategies, pp.49-68. In "Survival strategies of algae" (ed. Fryxell, G.A.). Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Heywood, P. (1980). Chloromonads, pp.351-379. In "Phytoflagellates" (ed. Cox, E.R.). Elsevier, N.Y.

- Hiroishi, S., A. Uchida, K. Nagasaki & Y. Ishida (1988). A new method for identification of inter- and intra-species of the red tide algae Chattonella antiqua and Chattonella marina (Raphidophyceae) by means of monoclonal antibodies. *J. Phycol.*, 24, 442-444.
- 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.
- Honjo, T. (1987). Growth potential of Chattonella marina (Raphidophyceae) collected in Gokasho Bay, central Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 34, 119-124.
- 市村輝宣 (1979). 有性生殖の誘起と交配実験法, 195-209. 藻類研究法 (西澤一俊・千原光雄 編). 共立出版, 東京.
- 飯塚昭二 (1986). 植物プランクトンの異常増殖, pp. 209-249. 藻類の生態 (秋山 優・有賀祐勝・坂本 充・横浜康継 編). 内田老鶴圃, 東京.
- 飯塚昭二・入江春彦 (1972). 大村湾の赤潮発生環境と発生要因, pp. 35-57. 内湾赤潮の発生機構 (花岡 資・入江春彦・上野福三・飯塚昭二・岡市友利・岩崎英雄 編). 日本水産資源保護協会, 東京.
- 池田三郎・中田英昭 (1987). 赤潮発生現象のシステム分析, pp. 255-285. 赤潮の科学 (岡市友利 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 池田武彦 (1971). 赤潮プランクトンに関する研究一Ⅲ 海産ミドリムシの栄養生理について. *山口内海水試報*, No. 2, 4-8.
- 池田武彦・高山繁昭・桃山和夫 (1971). 1970年の山口県瀬戸内海における赤潮. *山口内海水試報*, No. 2, 9-17.
- 今井一郎 (1984). 周防灘における海洋細菌の粒子径組成と現存量. *南西水研報*, No. 17, 183-196.
- Imai, I. (1987). Size distribution, number and biomass of bacteria in intertidal sediments and seawater of Ohmi Bay, Japan. *Bull. Japan. Soc. microb. Ecol.*, 2, 1-11.
- 今井一郎・伊藤克彦 (1984). 1983年5月周防灘における従属栄養性微小鞭毛虫類の分布. *南西水研報*, No. 17, 219-233.
- 今井一郎・伊藤克彦・安楽正照 (1984). 播磨灘における Chattonella 耐久細胞の分布と発芽温度. *日本プランクトン学会報*, 31, 35-42.

- 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.
- 今村賢太郎・福代康夫 (1987). 有殻類の鏡板観察法, pp. 64-72. 赤潮生物研究指針 (日本水産資源保護協会 編). 秀和, 東京.
- 井内美郎 (1982). 瀬戸内海における表層堆積物分布. 地質学雑誌, 88, 665-681.
- Ishida, Y. & H. Kadota (1979). A new method for enumeration of oligotrophic bacteria in lake water. Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol., 12, 77-85.
- 伊藤克彦 (1987). 周防灘における赤潮発生状況と一般環境, pp. 85-91. 赤潮の発生予知技術の開発に関する研究, 昭和 61 年度研究報告書. 南西水研・東海水研.
- 伊藤克彦・今井一郎 (1986). 橈脚類による Chattonella marina (Raphidophyceae) の摂食とふん粒の排泄. 南西水研報, No. 20, 115-126.
- 伊藤克彦・今井一郎 (1987). ラフィド藻, pp. 122-130. 赤潮生物研究指針 (日本水産資源保護協会 編). 秀和, 東京.
- 伊藤克彦・今井一郎 (1988). 赤潮・その対策と研究の歩み, pp. 228-237. 21世紀の漁業と水産海洋研究 (水産海洋研究会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 伊藤克彦・今井一郎・山口峰生・松尾 豊・安楽正照・寺田和夫・神菌真人 (1986). 1985 年夏季に周防灘で発生した Gymnodinium nagasakiense 赤潮の経過と海況, pp. 7-18. 赤潮の発生予知技術の開発に関する研究, 昭和 60 年度研究報告書. 南西水研・東海水研.
- 伊藤克彦・今井一郎・山口峰生・松尾 豊・寺田和夫・神菌真人・池内仁 (1987). 1986 年夏季, 周防灘における Gymnodinium nagasakiense の出現経過と海況, pp. 7-14. 赤潮の発生予知技術の開発に関する研究, 昭和 61 年度研究報告書. 南西水研・東海水研.
- 岩崎英雄 (1971). 赤潮鞭毛藻に関する研究一Ⅳ. 1970 年, 備後灘に出現した Eutrptiella sp. と Exuviaella sp. について. 日本海洋学会誌, 27, 152-157.
- 岩崎英雄 (1973). 赤潮鞭毛藻の生理特性からみた赤潮の発生機構. 日本

- プランクトン学会報, 19, 104-114.
- Iwasaki, H. (1979). Physiological ecology of red tide flagellates, pp. 357-393. In "Biochemistry and physiology of protozoa" 2nd ed. Vol. 1. Academic Press, London.
- 岩崎英雄 (1980). 赤潮生物の栄養要求性, pp. 11-24. 赤潮—発生機構と対策, 水産学シリーズ 34 (日本水産学会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 城久 (1985). 大阪湾に発生する赤潮の特性. 生活衛生, 29, 128-141.
- Kadota, H., Y. Ishida, Y. Sako & Y. Hata (1984). Growth, encystment and excystment of Peridinium cunningtonii. Mem. Coll. Agr., Kyoto Univ., No. 123, 27-36.
- 鹿児島県水産試験場 (1978-1980). 鹿児島県水産試験場事業報告書, 漁業部編.
- 木俣正夫・河合章・石田祐三郎 (1960a). 海底泥土の採集法. 日本水産学会誌, 26, 1227-1230.
- 木俣正夫・河合章・石田祐三郎 (1960b). 海底泥土中の硫酸塩還元細菌の計算について. 日本水産学会誌, 26, 1231-1233.
- 木村知博・溝上昭男・橋本俊将 (1973). 漁業被害をもたらした広島湾の赤潮: その発生状況と発生環境. 日本プランクトン学会報, 19, 82-96.
- 気象庁海洋気象部神戸海洋気象台 (1985). 水塊分布とその変動, pp. 315-323. 海洋生物資源の生産能力と海洋環境に関する研究 (第 I 期) 成果報告書. 科学技術庁 研究調整局.
- 小林 聡・松岡数充・飯塚昭二 (1981). 大村湾底泥中からの Gonyaulax polyedra Stein のシストの発見. 日本プランクトン学会報, 28, 53-57.
- 小林 聡・松岡数充・飯塚昭二 (1986). 日本沿岸表層堆積物中の渦鞭毛藻シストの分布. 日本プランクトン学会報, 33, 81-93.
- 古賀文洋 (1984). Chattonella antiqua (Chloromonadophyceae) の形態及び増殖率への塩分の影響. 南西水研報, No. 17, 197-205.
- 九万田一巳・武田健二・荒牧孝行 (1986). V 鹿児島湾海域 1. Chattonella marina の出現と海洋構造, pp. 109-134. 昭和 60 年度九州海域赤潮調査報告書 (西海ブロック). 水産庁等.
- 九万田一巳・武田健二・荒牧孝行 (1987). VI 鹿児島湾海域 1. Chattonella marina の出現と海洋構造, pp. 149-168. 昭和 61 年度九州海

- 域赤潮調査報告書 (西海ブロック). 水産庁等.
- Lewis, C. M., C. M. Yentsch & B. Dale (1979). Distribution of Gonyaulax excavata resting cysts in the sediments of Gulf of Maine, pp.235-238. In "Toxic dinoflagellate blooms" (eds. Taylor, D. L. & H. H. Seliger). Elsevier, N. Y.
- Lewis, J. (1988). Cysts and sediments : Gonyaulax polyedra (Lingulodinium machaerophorum) in Loch Creran. J. mar. biol. Ass. U. K., 68, 701-714.
- Liddle, L. B. & T. Hori (1983). The use of fluorescence staining to study nucleus development in the multinucleate dasycladalean green algae. Jap. J. Phycol., 31, 173-179.
- Lighthart, B. (1969). Planktonic and benthic bacteriovorous protozoa at eleven stations in Puget Sound and adjacent Pacific Ocean. J. Fish. Res. Board Can., 26, 299-304.
- Marcus, N. H. (1984). Recruitment of copepod nauplii into the plankton : importance of diapause eggs and benthic processes. Mar. Ecol. Prog. Ser., 15, 47-54.
- Marcus, N. H. & J. Schmidt-Gengenbach (1986). Recruitment of individuals into the plankton : The importance of bioturbation. Limnol. Oceanogr., 31, 206-210.
- 門谷 茂・岡市友利 (1987). 鉄およびその吸収機構, pp.194-204. 赤潮の科学 (岡市友利 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 村上彰男 (1976). 地理, pp.3-13. 瀬戸内海の海域生態と漁場 (村上彰男 編). フジ・テクノシステム, 東京.
- 村上彰男 (1980). 富栄養化の抑制, pp.86-89. 赤潮一発生機構と対策, 水産学シリーズ 34 (日本水産学会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- Nakahara, H. (1978). Studies on plankton in Maizuru Bay. I. Seasonal variation and vertical microdistribution. Mem. Coll. Agr., Kyoto Univ., No.112, 49-82.
- 中原紘之 (1986). 藻類の生活史と生態, pp.533-592. 藻類の生態 (秋山 優・有賀祐勝・坂本 充・横浜康継 編). 内田老鶴圃, 東京.
- 中原紘之・左子芳彦 (1987). 淡水植物プランクトンの生活史, pp.21-77. 淡水赤潮 (門田 元 編). 恒星社厚生閣, 東京.

- Nakamura, Y. (1985a). Ammonium uptake kinetics and interactions between nitrate and ammonium uptake in Chattonella antiqua. J. oceanogr. Soc. Japan, 41, 33-38.
- Nakamura, Y. (1985b). Kinetics of nitrogen- or phosphorus-limited growth and effects of growth conditions on nutrient uptake in Chattonella antiqua. J. oceanogr. Soc. Japan, 41, 381-387.
- Nakamura, Y., J. Takashima & M. Watanabe (1988). Chemical environment for red tides due to Chattonella antiqua in the Seto Inland Sea, Japan Part 1. Growth bioassay of the seawater and dependence of growth rate on nutrient concentrations. J. oceanogr. Soc. Japan, 44, 113-124.
- Nakamura, Y. & M.M. Watanabe (1983a). Growth characteristics of Chattonella antiqua (Raphidophyceae) Part 1. Effects of temperature, salinity, light intensity and pH on growth. J. oceanogr. Soc. Japan, 39, 110-114.
- Nakamura, Y. & M.M. Watanabe (1983b). Growth characteristics of Chattonella antiqua (Raphidophyceae) Part 2. Effects of nutrients on growth. J. oceanogr. Soc. Japan, 39, 151-155.
- Nakamura, Y. & M.M. Watanabe (1983c). Nitrate and phosphate uptake kinetics of Chattonella antiqua grown in light/dark cycles. J. oceanogr. Soc. Japan, 39, 167-170.
- 中田憲一・飯塚昭二 (1987). 赤潮渦鞭毛藻 Gymnodinium nagasakiense の越冬に関する一観察. 日本プランクトン学会報, 34, 199-201.
- Nakaya, M. & Y. Yoshida (1984). Mechanism for unusual accumulation of Chattonella sp. at the southeast region of the inmost part in Kagoshima Bay. Bull. Japan. Soc. sci. Fish., 50, 1619.
- 西島敏隆 (1985). 沿岸海域におけるB群ビタミンの動態に関する研究一赤潮の発生に関連して一. 高知大学農学部紀要, No. 43, 1-154.
- Nishijima, T. & Y. Hata (1986). Physiological ecology of Chattonella antiqua (Hada) Ono on B group vitamin requirements. Bull. Japan. Soc. sci. Fish., 52, 181-186.
- 野網和三郎 (1969). 養魚秘録 海を拓く安戸池. 225pp. みなと新聞社, 下関.

- Noro, T. & K. Nozawa (1981). Ultrastructure of a red tide chloromonadophycean alga, Chattonella sp., from Kagoshima Bay, Japan. Jap. J. Phycol., 29, 73-78.
- Odate, T. (1987). Temporal and horizontal distribution of the diatom community during the spring bloom in Funka Bay, southern Hokkaido. Bull. Plankton Soc. Japan, 34, 33-42.
- 岡市友利 (1980). 魚介類の被害防止策, pp. 124-138. 赤潮-発生機構と対策, 水産学シリーズ 34 (日本水産学会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 岡市友利 (1983). 赤潮に関する生物環境学的研究. 日本海洋学会誌, 39, 267-278.
- 岡市友利 (1987). 赤潮現象, pp. 5-36. 赤潮の科学 (岡市友利 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 岡市友利・畑 幸彦・遠藤拓郎・柳 哲雄 (1983). 瀬戸内海, pp. 298-324. 沿岸域保全のための海の環境科学 (平野敏行 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- Onbé, T. (1985). Seasonal fluctuations in the abundance of populations of marine cladocerans and their resting eggs in the Inland Sea of Japan. Mar. Biol., 87, 83-88.
- 小野知足・楠木 豊・九万田一巳・代田昭彦・城 久・田原恒男・深瀬茂・吉田陽一・村上彰男・渡辺 弘 (1980). 赤潮の発生は予知できるか, pp. 147-181. 赤潮に関する近年の知見と研究の問題点 (赤潮研究会 編). 日本水産資源保護協会, 東京.
- Ono, C. & H. Takano (1980). Chattonella antiqua (Hada) comb. nov., and its occurrence on the Japanese coast. Bull. Tokai reg. Fish. Res. Lab., No. 102, 93-100.
- Paerl, H. W. (1988). Nuisance phytoplankton blooms in coastal, estuarine, and inland waters. Limnol. Oceanogr., 33, 823-847.
- Pfiester, L. A. (1975). Sexual reproduction of Peridinium cinctum f. ovoplanum (Dinophyceae). J. Phycol., 11, 259-265.
- Pfiester, L. A. (1976). Sexual reproduction of Peridinium willei (Dinophyceae). J. Phycol., 12, 234-238.
- Pfiester, L. A. (1977). Sexual reproduction of Peridinium gatunense (Dinophyceae). J. Phycol., 13, 92-95.

- Pfiester, L. A. (1984). Sexual reproduction, pp.181-199. In "Dinoflagellates" (ed. Spector, D.L.). Academic Press, Orlando.
- Pfiester, L. A. & D. M. Anderson (1987). Dinoflagellate reproduction, pp.611-648. In "The biology of dinoflagellates" (ed. Taylor, F. J. R.). Blackwell, Oxford.
- Pfiester L. A. & J. J. Skvarla (1979). Heterothallism and thecal development in the sexual life history of Peridinium volzii (Dinophyceae). *Phycologia*, 18, 13-18.
- Porter, K. G. & Y. S. Feig (1980). The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943-948.
- Prakash, A. (1967). Growth and toxicity of a marine dinoflagellate, Gonyaulax tamarensis. *J. Fish. Res. Board Can.*, 24, 1589-1606.
- Roman, M. R. & K. R. Tenore (1978). Tidal resuspension in Buzzard Bay, Massachusetts I. Seasonal changes in the resuspension of organic carbon and chlorophyll a. *Est. coast. Mar. Sci.*, 6, 37-46.
- 左子芳彦・石田祐三郎 (1986). 渦鞭毛藻における有性生殖の生態学的意義, pp.99-113. 微生物の生態 14—進化をめぐって (日本微生物生態学会 編). 学会出版センター, 東京.
- Sako, Y., Y. Ishida, H. Kadota & Y. Hata (1984). Sexual reproduction and cyst formation in the freshwater dinoflagellate Peridinium cunningtonii. *Bull. Japan. Soc. sci. Fish.*, 50, 743-750.
- Sako, Y., Y. Ishida, H. Kadota & Y. Hata (1985). Excystment in the freshwater dinoflagellate Peridinium cunningtonii. *Bull. Japan. Soc. sci. Fish.*, 51, 267-272.
- Sako, Y., M. Nakanishi, T. Konda, Y. Ishida, H. Kadota, K. Shrestha, H. B. Bhandary & R. L. Shrestha (1986). Life cycle of Peridinium sp. B3 (Dinophyceae) isolated from Lake Begnas, Nepal. *Bull. Japan. Soc. microb. Ecol.*, 1, 19-27.
- Sako, Y., Y. Ishida, T. Nishijima & Y. Hata (1987). Sexual reproduction and cyst formation in the freshwater dinoflagellate Peridinium penardii. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53, 473-478.

- Sakshaug, E. & S. Myklestad (1973). Studies on the phytoplankton ecology of the Trondheimsfjord. III. Dynamics of phytoplankton blooms in relation to environmental factors, bioassay experiments and parameters for the physiological state of the populations. *J. exp. mar. Biol. Ecol.*, 11, 157-188.
- 桜井仁人 (1985). 鹿児島湾 II. 物理, pp.780-793. 日本全国沿岸海洋誌 (日本海洋学会沿岸海洋研究部会 編). 東海大学出版会, 東京.
- Sandgren, C. D. (1983). Survival strategies of chrysophycean flagellates : reproduction and the formation of resistant resting cysts, pp.23-48. In "Survival strategies of algae" (ed. Fryxell, G. A.). Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Sherr, E. B. & B. F. Sherr (1983). Double-staining epifluorescence technique to assess frequency of dividing cells and bacterivory in natural populations of heterotrophic microprotozoa. *Appl. environ. Microbiol.*, 46, 1388-1393.
- 代田昭彦 (1980). 赤潮生物の駆除, pp.105-123. 赤潮-発生機構と対策, 水産学シリーズ 34 (日本水産学会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- Singh, B. N. (1946). A method of estimating the numbers of soil protozoa, especially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Ann. Appl. Biol.*, 33, 112-119.
- Smetacek, V. S. (1985). Role of sinking in diatom life-history cycles : ecological, evolutionary and geological significance. *Mar. Biol.*, 84, 239-251.
- Sokol, R. C. & R. G. Stross (1986). Annual germination window in oospores of Nitella furcata (Charophyceae). *J. Phycol.*, 22, 403-406.
- Spencer, L. B. (1971). A study of Vacuolaria virescens Cienkowski. *J. Phycol.*, 7, 274-279.
- Steidinger, K. A. (1975). Basic factors influencing red tides, pp. 153-162. In "Proceedings of the first international conference on toxic dinoflagellate blooms" (ed. LoCicero, V. R.). Mass. Sci. Tech. Found., Wakefield, MA.
- Steidinger, K. A. & K. Haddad (1981). Biological and hydrographic

- aspects of red tides. *BioScience*, 31, 814-819.
- Subrahmanyam, R. (1954). On the life-history and ecology of *Hornellia marina* gen. et sp. nov., (Chloromonadineae), causing green discoloration of the sea and mortality among marine organisms off the Malabar coast. *Indian J. Fish.*, 1, 182-203.
- 水産庁 (1978). 鹿児島湾赤潮発生原因調査研究報告書—昭和 52 年 6 月発生の *Hornellia* 赤潮—. 81pp.
- 水産庁 (1987). 予察システム確立試験. 昭和 61 年度赤潮対策技術開発試験報告書, 223pp. 芙蓉情報センター.
- 水産庁 (1988b). 広島湾. 昭和 62 年度内湾海域シスト調査報告書資料, 42pp. 日本水産資源保護協会.
- 水産庁瀬戸内海漁業調整事務局 (1973). 昭和 47 年夏期東部瀬戸内海養殖はまち大量へい死事故の全容. 51pp.
- 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所 (1980-1988). 瀬戸内海の赤潮.
- 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所 (1988a). 昭和 62 年夏期東部瀬戸内海シャットネラ赤潮の発生状況と被害の概要. 79pp.
- Takahashi, M., D.L. Seibert & W.H. Thomas (1977). Occasional blooms of phytoplankton during summer in Saanich Inlet, B.C., Canada. *Deep-Sea Res.*, 24, 775-780.
- 高杉由夫・肥後竹彦・河野 信 (1985). 瀬戸内海における恒流の変動特性. 中国工業技術研究所報告, No. 25, 1-16.
- 高山晴義 (1972). 1969 年および 1970 年広島湾に発生した赤潮鞭毛虫類について. 広水試研報, No. 3, 1-7.
- 高山晴義 (1980). 走査電子顕微鏡による *Chattonella* sp. (*Hornellia* sp.) の観察. 日本プランクトン学会報, 27, 37-40.
- 高山晴義 (1981). 赤潮プランクトンの走査電子顕微鏡試料作成法. 広水試研報, No. 11, 101-112.
- 高山晴義 (1983). 広島県沿岸に出現する赤潮生物—I. *Chattonella antiqua* (Hada) Ono と *Chattonella marina* (Subrahmanyam) Hara et Chihara. 広水試研報, No. 13, 59-64.
- Takayama, H. & R. Adachi (1984). *Gymnodinium nagasakiense* sp. nov., a red-tide forming Dinophyte in the adjacent waters of Japan. *Bull. Plankton Soc. Japan*, 31, 7-14.

- 田中俊次・藤田真吾・杉山元彦・西岡 純・中西雅幸 (1977). 1975 年 10 月, 舞鶴湾で発生した Hemieutreptia antiqua 赤潮について. 京都府海洋センター研報, No. 1, 94-112.
- 舘脇正和 (1979). 予備培養 (粗培養), pp. 61-69. 藻類研究法 (西澤一俊・千原光雄 編). 共立出版, 東京.
- 寺田和夫・池内 仁・高山晴義 (1987). 冬季の周防灘沿岸で観察された Gymnodinium nagasakiense. 日本プランクトン学会報, 34, 201-204.
- 寺田和夫・神藺真人 (1986). 昭和 59 年 7 月周防灘に発生した Chattonella 赤潮について. 福岡豊前水試研報 (昭和 59 年度), 106-117.
- 寺田和夫・神藺真人・佐々木和之 (1982). 豊前海の赤潮とその発生環境について. 福岡豊前水試研報 (昭和 55 年度), 91-106.
- 寺田和夫・渡辺昭二・佐々木和之 (1981). 豊前海の赤潮発生状況について 第Ⅷ報. 福岡豊前水試研報 (昭和 54 年度), 87-93.
- Thayer, P. E., J. W. Hurst, C. M. Lewis, R. Selvin & C. M. Yentsch (1983). Distribution of resting cysts of Gonyaulax tamarensis var. excavata and shellfish toxicity. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40, 1308-1314.
- Thronsen, J. (1978). The dilution-culture method, pp. 218-224. In "Phytoplankton manual" (ed. Sournia, A.). Unesco, Paris.
- Tomas, C. R. (1978). Olisthodiscus luteus (Chrysophyceae) II. Formation and survival of a benthic stage. J. Phycol., 14, 314-319.
- Tsuda, A. & T. Nemoto (1984). Feeding of a marine copepod Acartia clausi on cultured red-tide phytoplankton. Bull. Plankton Soc. Japan, 31, 79-80.
- 辻田時美 (1984). ブルーミングと赤潮の発生に関する諸過程. La mer, 22, 305-323.
- Turpin, D. H., P. E. R. Dobell & F. J. R. Taylor (1978). Sexuality and cyst formation in Pacific strains of the toxic dinoflagellate Gonyaulax tamarensis. J. Phycol., 14, 235-238.
- Uchida, A., K. Nagasaki, S. Hiroishi & Y. Ishida (1989). The application of monoclonal antibodies to an identification of Chattonella marina and Chattonella antiqua. Nippon Suisan

- Gakkaishi, 55, 721-725.
- Uye, S. (1986). Impact of copepod grazing on the red-tide flagellate Chattonella antiqua. Mar. Biol., 92, 35-43.
- 上 真一・笠原正五郎 (1978). 沿岸性かいあし類の生活史, 殊に耐久卵の役割にゆいて. 日本プランクトン学会報, 25, 109-122.
- Uye, S., S. Kasahara & T. Onbē (1979). Calanoid copepod eggs in sea-bottom muds. IV. Effects of some environmental factors on the hatching of resting eggs. Mar. Biol., 51, 151-156.
- 上田賀茂・近藤敬三 (1988). 兵庫県, pp.38-45. 昭和 62 年夏期東部瀬戸内海シャットネラ赤潮の発生状況と被害の概要. 水産庁瀬戸内海漁業調整事務所.
- von Stosch, H. A. (1973). Observations on vegetative reproduction and sexual life cycles of two freshwater dinoflagellates, Gymnodinium pseudopalustre Schiller and Woloszynskia apiculata sp. nov. Br. Phycol. J., 8, 105-134.
- von Stosch, H. A. & K. Fecher (1979). "Internal thecae" of Eunotia soleirolii (Bacillariophyceae) : Development, structure and function as resting spores. J. Phycol., 15, 233-243.
- Walker, L. M. (1984). Life histories, dispersal, and survival in marine, planktonic dinoflagellates, pp.19-34. In "Marine plankton life cycle strategies" (eds. Steidinger, K. A. & L. M. Walker). CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Walker, L. M. & K. A. Steidinger (1979). Sexual reproduction in the toxic dinoflagellate Gonyaulax monilata. J. Phycol., 15, 312-315.
- Wall, D. (1971). Biological problem concerning fossilizable dinoflagellates. Geoscience and Man, 3, 1-15.
- Wall, D. (1975). Taxonomy and cysts of red-tide dinoflagellates, pp.249-255. In "Proceedings of the first international conference on toxic dinoflagellates" (ed. LoCicero, V. R.). Mass. Sci. Tech. Found., Wakefield, MA.
- Wall, D. & B. Dale (1968). Modern dinoflagellate cysts and evolution of the Peridinales. Micropaleontology, 14, 265-304.

- Wall, D. & B. Dale (1969). The "hystrichosphaerid" resting spore of the dinoflagellate Pyrodinium bahamense, Plate, 1906. J. Phycol., 5, 140-149.
- Watanabe, M.M., Y. Nakamura & K. Kohata (1983). Diurnal vertical migration and dark uptake of nitrate and phosphate of the red tide flagellates, Heterosigma akashiwo Hada and Chattonella antiqua (Hada) Ono (Raphidophyceae). Jap. J. Phycol., 31, 161-166.
- 渡辺 信・渡辺正孝・福代康夫 (1982). 赤潮鞭毛藻類のシスト形成と発芽 I. Scrippsiella trochoidea におけるシスト形成の誘起条件について. 国立公害研究所研究報告, No. 30, 27-42.
- 渡辺正孝 (1986). 沿岸海域における赤潮発生機構—研究の現状と今後の課題—. 用水と廃水, 28, 45-53.
- 渡辺正孝 (1988). 内湾における赤潮発生機構. 水, 30, 16-22.
- White, A.W. & C.M. Lewis (1982). Resting cysts of the toxic, red tide dinoflagellate Gonyaulax excavata in Bay of Fundy sediments. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 39, 1185-1194.
- 山口峰生 (1988). 赤潮鞭毛藻 Gymnodinium nagasakiense における増殖速度の予測モデル—水温と塩分に対する応答—, pp. 65-73. 赤潮の発生予知技術の開発に関する研究, 昭和 62 年度研究報告書. 南西水研・東海水研.
- Yamamoto, H., Y. Ezura & T. Kimura (1984). Distribution of bacterial parasites and predators in the coastal sea area. Bull. Japan. Soc. sci. Fish., 50, 1395-1406.
- 矢持 進 (1984a). 大阪湾に出現する赤潮鞭毛藻 6 種の増殖に及ぼす水温の影響. 日本プランクトン学会報, 31, 15-22.
- 矢持 進 (1984b). 大阪湾に出現する赤潮鞭毛藻 Prorocentrum micans, Eutreptiella sp. および Chattonella marina の増殖制限栄養因子について. 日本プランクトン学会報, 31, 97-106.
- Yamochi, S. (1984). Mechanisms for outbreak of Heterosigma akashiwo red tide in Osaka Bay, Japan Part 3. Release of vegetative cells from bottom mud. J. oceanogr. Soc. Japan, 40, 343-348.

- Yamochi, S. & H. Joh (1986). Effects of temperature on the vegetative cell liberation of seven species of red-tide algae from the bottom mud in Osaka Bay. *J. oceanogr. Soc. Japan*, 42, 266-275.
- 柳 哲雄 (1984). 播磨灘赤潮発生年の海況の特徴. *海洋科学*, 16, 56-59.
- 柳 哲雄 (1987). 物理環境, pp. 149-159. 赤潮の科学 (岡市友利 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 柳 哲雄・樋口明生 (1979). 瀬戸内海の恒流. 沿岸海洋研究ノート, 16, 123-127.
- 柳田友道 (1976). 赤潮. 198pp. 講談社, 東京.
- 矢野 純 (1978). 燧灘 (愛媛県海域) の赤潮発生パターン, pp. 145-157. 瀬戸内海赤潮予察調査, 昭和 51, 52 年度研究報告書. 水産庁.
- Yentsch, C. M., C. M. Lewis & C. S. Yentsch (1980). Biological resting in the dinoflagellate Gonyaulax excavata. *BioScience*, 30, 251-254.
- 吉田正雄・北角 至・斎浦耕二・秋月友治 (1987). 徳島県沿海における Chattonella 耐久細胞の分布及び発芽水温について. 徳島水試事報 (昭和 60 年度), 146-154.
- 吉田陽一 (1980). 赤潮の発生予察, pp. 90-104. 赤潮一発生機構と対策, 水産学シリーズ 34 (日本水産学会 編). 恒星社厚生閣, 東京.
- 吉田陽一・沼田克己 (1982a). Chattonella antiqua (Hada) Ono の潮流による集積. *日本水産学会誌*, 48, 1271-1275.
- 吉田陽一・沼田克己 (1982b). Chattonella antiqua (Hada) Ono の集積に及ぼす風の影響. *日本水産学会誌*, 48, 1277-1280.
- 吉田陽一・沼田克己 (1982c). 鹿児島湾および周防灘における Chattonella sp. の集積と移動. *日本水産学会誌*, 48, 1401-1405.
- 吉田陽一・沼田克己 (1983). Chattonella antiqua (Hada) Ono の浮上性および走光性. *日本プランクトン学会報*, 30, 11-19.
- 吉松定昭 (1987). 瀬戸内海播磨灘より見出だされた Fibrocapsa japonica (Raphidophyceae) のシスト. *日本プランクトン学会報*, 34, 25-31.
- 吉松定昭・小野知足 (1986). 播磨灘南部での赤潮生物および鞭毛藻類の季節的消長. 香川県赤潮研究所研報, No. 2, 1-42.

- 吉松定昭・結城勝久 (1979). 体長組成, pp. 82-87. 昭和 53 年 6 月発生
ホルネリア赤潮に関する調査報告書. 香川県.
- 吉岡貞範・神菌真人・田森裕茂 (1987). 周防灘の平均的な海況. 南西海
区ブロック海洋研究会報告, No. 4, 11-32.
- Zgurovskaya, L. N. (1977). Influence of the addition of nutrients
on spore germination and division of planktonic algae from
bottom sediments. *Oceanology*, 17, 75-77.