

## 周防灘海底泥から見出されたChattonellaのシストについて

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
著者	今井, 一郎 伊藤, 克彦
巻/号	33巻1号
掲載ページ	p. 61-63
発行年月	1986年7月

周防灘海底泥から見出された *Chattonella* のシストについて (予報)<sup>1)</sup>A Preliminary Note on the Cysts of *Chattonella* (Raphidophyceae),  
Red Tide Flagellates, Found in Bottom Sediment in  
Suo-Nada, Western Seto Inland Sea, Japan<sup>1)</sup>

Cysts of *Chattonella* (Raphidophyceae), fish-killing red tide flagellates, were found for the first time from surface sediments in Suo-Nada, western part of the Seto Inland Sea, Japan. Cysts were effectively recovered from sediment samples by discontinuous density gradient centrifugation using metrizamide-seawater solution (specific gravity, 1.4); this procedure eliminated most of other heavy particles. Living cysts of *Chattonella* were yellow-greenish to brownish in color. Most of them were found to adhere to thin solid surface such as fragments of diatom frustules (Fig. 1, Pl. I, A). Clusters of several cysts including empty ones were sometimes observed. In dorsal view, the cyst was ovoid or circular with diameters of 25–35  $\mu\text{m}$ , and in lateral view, mostly semicircular (Fig. 1). Vegetative cells within 24 hours after germination were similar in size to the cysts, and they enlarged later to the size of common vegetative cells.

ICHIRO IMAI & KATSUHIKO ITOH  
Nansei Regional Fisheries Research Laboratory,  
Ohno-cho, Saeki-gun, Hiroshima-ken 739-04

最近, *Chattonella* 赤潮の発生機構において海底泥中で越冬した耐久細胞が seed population として重要な役割を果していることが指摘されている (今井ほか 1984). しかし, *Chattonella* の生活史に関しては不明な点が多く, わずかに *Chattonella marina* (Subrahmanyam) Hara & Chihara (= *Hornellia marina* Subrahmanyam) で接合子形成の報告があるのみで (SUBRAHMANYAN 1954), 海底泥中に存在すると考えられるシストの形態は未確認であった. 今回, 周防灘の海底泥から初めて *Chattonella* のシストを見出したので, その形態と特徴について概報する.

供試した海底泥は, 1985年4月に周防灘の1定点 (北緯 33°46.8', 東経 131°25.3') から, 内径 4 cm の柱状採泥器を用いて採集し, 柱状泥の表面から 1 cm の深さまでを分取して, 11°C の暗条件下に約 1 年間保存したものである. 湿重量 2 g の試料を,  $\text{GeO}_2$  を  $1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$  の濃度になるよう添加した滅菌濾過海水 (以後海水と称する) に懸濁し, 超音波処理後, 節を用いた濾過洗浄によって 20–75  $\mu\text{m}$  の粒径画分を得た. この画分を半分に分け, 5 ml ずつに定容した. 次に, 海水に metrizamide を加えて比重約 1.4 の溶液を調製し (ANDERSON et al. 1985), これを 2 本の共栓ガラス遠心沈殿管に 2.5 ml ずつ分注した. 遠心沈殿管内のこれらの溶液上に, 上記の懸濁液を静かに加えた. その後, 1,000 rpm (約  $190 \times g$ ), 10 分間の遠心分離を行ない, 上澄みの画分を 20  $\mu\text{m}$  の節を通して海水で

充分洗浄し, 再度 10 ml の海水に懸濁した. この懸濁液を検鏡試料とし, シストの探索および発芽実験に用いた.

シスト探索には先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上記の懸濁液について行ない, 赤色蛍光を発するシストと考えられるものの形態を記録した. これは, 発芽の近い *Gonyaulax excavata* のシストが青色光によって, 葉緑素による赤色蛍光を発するという報告 (YENTSCH et al. 1980) に依拠したものである. この記録をもとに, 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 63 個分離し, 0.1 ml の海水を入れた組織培養用容器 (Falcon, 96 区画) の各区画に 1 個ずつ収容した. 水分の蒸発を防ぐために海水表面に適量の流動パラフィンを加えた. 培養は 22°C, 照度約 1,800 lx, 明暗周期 14 L-10 D の条件下で 11 日間行ない, 倒立顕微鏡を用いて 2-3 日間隔で観察した. この結果, 2 区画において *Chattonella* と考えられる栄養細胞が出現した. これらの栄養細胞は, 長さ約 60  $\mu\text{m}$ , 幅約 30  $\mu\text{m}$  の紡錘形であり, 黄褐色～褐色を呈し, 多数の色素体が中央から放射状に存在した. 曳航鞭毛ははっきりとは確認できなかったが, 細胞前端の咽喉部から前方へ向かう 1 本の鞭毛があり, 遊泳様式等から *Chattonella* であると判断した. この実験で判明したシストの形態に焦点を絞り, 再度 52 個のシストを同様に分離培養し, 12 の区画から同様の栄養細胞の出現を確認した.

以上の探索手順で確認された形態のシストを, 前述

<sup>1)</sup> 1986年6月30日受理 (Accepted 30 June 1986)

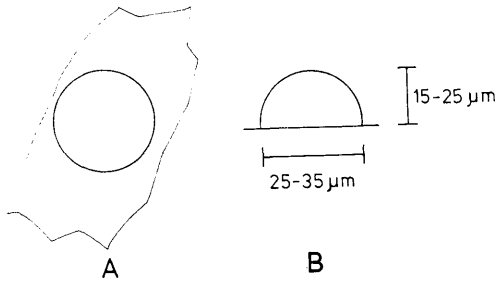


Fig. 1. Schematic representation of the cysts of *Chattonella*.

- A: Dorsal view. Cysts are often found to adhere to thin solid surface such as fragments of diatom frustules.  
 B: Lateral view.

の方法と培養条件で24区画に分離培養して発芽実験を行ない、5日目まで毎日、および11日と23日目に観察した。これらのシストのうち、培養期間中に細胞内内容物が空になり、同時に区画内に栄養細胞が確認された場合をシストが発芽したものと判断した。培養開始後2-3日で11個の区画中のシストが発芽した。

発芽前の *Chattonella* のシスト (Pl. I, A, E) は、黄緑色～茶色を呈し、珪藻の被殻等に付着したものが多く、単一で存在する場合と、数個が付着して塊状 (空のものも含む) となって存在する場合とがあった。多くのシストには数個の濃褐色あるいは黒色の斑点が認められるが、これは発芽後もシストに残存する (Pl. I, B, F)。模式的に描いたシストの形態を Fig. 1 に示した。シストは背面からみると直径 25-35  $\mu\text{m}$  の円ないし楕円形であるが、側面からみると付着面が扁平で、高さ 15-25  $\mu\text{m}$  の概ね半円形を呈していた。この点が *Chattonella* のシストの顕著な形態的特徴といえる。細胞内に空胞様の構造を含むシスト (Pl. I, E) が時々認められたが、それらは色調も薄く、培養期間を通じて発芽しなかった。

発芽後24時間以内の栄養細胞を Pl. I, C, G に、その後2日経過したものを Pl. I, D, H に示した。栄養細胞は発芽後2日間では分裂しなかったため、Pl. I, C, D および Pl. I, G, H に示す細胞はそれぞれ同一の栄養細胞である。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、時間の経過と共に栄養細胞は

大きくなるようである。現時点では、発芽した栄養細胞が *C. antiqua* (Hada) Ono であるのか、*C. marina* であるのかについては判断としないが、今後培養によって明らかにしたい。

Metrizamide 溶液を用いた遠心分離操作によるシストの回収率を調べるため、操作前後の懸濁液について終点希釈法 (IMAI et al. 1984) によりシストを計数した結果、回収率は約 20% であった。しかし、この操作によって他の粒子の殆どが除去されるので、シストの探索は未処理の試料と比較して極めて容易になった。また、metrizamide はシストに対して殆ど無毒であると報告されている (ANDERSON et al. 1985)。

現在、シストの発芽実験を継続中であり、*C. antiqua* と *C. marina* のシストの識別や、発芽に至るまでのシスト内の形態的变化、発芽過程、さらに発芽後の栄養細胞の挙動等の詳細を明らかにしていきたい。

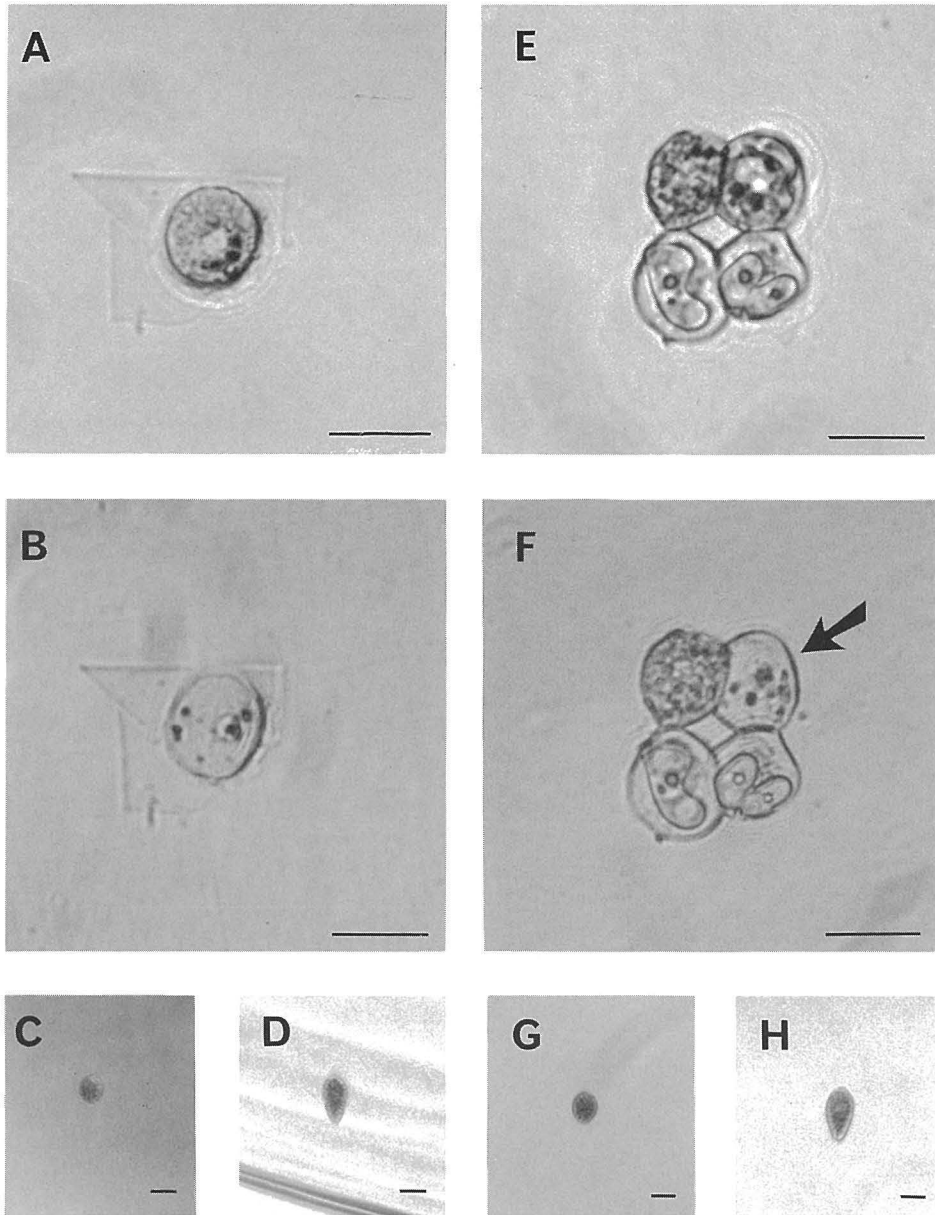
終りに、懇篤な御指導と激励を賜った前南海海区水産研究所赤潮部長安楽正照博士、ならびにシスト探索のための海底泥処理法について有益な御助言をいただいた広島大学生物生産学部遠部卓教授に心から謝意を表します。

今井一郎・伊藤克彦 (南海海区水産研究所)

#### 引用文献

- ANDERSON, D.M., J. J. LIVELY, E. M. REARDON & C. A. PRICE, 1985. Sinking characteristics of dinoflagellate cysts. *Limnol. Oceanogr.*, **30**: 1000-1009.  
 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.  
 SUBRAHMANYAN, 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. *Ind. J. Fish.*, **1**: 182-203.  
 YENTSCH, C.M., C.M. LEWIS & C.S. YENTSCH, 1980. Biological resting in the dinoflagellate *Gonyaulax excavata*. *BioScience*, **30**: 251-254.

## PLATE I



## Explanation of Plate I

Cysts of *Chattonella* and vegetative cells germinated from cysts. (Scale bar = 30  $\mu\text{m}$ )

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 Pl. I, A, within 24 h after germination.

D: Same vegetative cell as in Pl. I, C, 2-3 days after germination.

E-H, Cyst incubation, series 2.

E: A cluster of 4 cysts.

F: An empty cyst after 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 Pl. I, E, within 24 h after germination.

H: Same vegetative cell as in Pl. I, G, 2-3 days after germination.