

珪藻Chaetoceros pseudocurvisetusの休眠孢子形成に伴うキサントフィル色素組成の変化

誌名	日本プランクトン学会報
ISSN	03878961
巻/号	452
掲載ページ	p. 123-132
発行年月	1998年8月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



珪藻 *Chaetoceros pseudocurvisetus* の休眠孢子形成に伴う キサントフィル色素組成の変化¹⁾

奥 修・鎌谷明善

東京水産大学海洋環境学科
〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

Resting spore formation and xanthophyll pigments of the marine planktonic diatom *Chaetoceros pseudocurvisetus*

OSAMU OKU AND AKIYOSHI KAMATANI

Department of Ocean Sciences, Tokyo University of Fisheries
4-5-7 Konan, Minatoku, Tokyo 108-8477, Japan

Abstract: To clarify the survival mechanism of resting spores exposed to light, comparative studies of photosynthetic pigments between vegetative cells and resting spores were conducted. Diatoms, *Chaetoceros pseudocurvisetus* Mangin, collected from Sagami Bay were used in batch culture experiments. Nutrient conditions of each culture are nutrient rich, N & Si-limitation and N-limitation. Light intensity and temperature were adjusted to $160 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (14L:10D) and $20 \pm 1^\circ\text{C}$, respectively. Vegetative cells with various specific growth rates and resting spores were collected from the cultures, and photosynthetic pigments of these cells were measured by reverse-phase HPLC.

Chl. *a* and fucoxanthin levels decreased in resting spores more than in vegetative cells, but the molar ratio of the xanthophyll cycle pool (the sum of diadinoxanthin and diatoxanthin) to Chl. *a* increased. The molar ratio of epoxy-free xanthophyll cycle pigment (diatoxanthin) to Chl. *a* was highest in resting spores. Furthermore, de-epoxidation of xanthophyll cycle pigments by light exposure ($160 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 10 hrs) was much higher in resting spores (76%) than in vegetative cells (22–37%). Epoxidation and de-epoxidation of xanthophyll cycle pigment in resting spores was synchronized to environmental light-dark cycles (14L:10D), these results suggest that the diadinoxanthin-diatoxanthin xanthophyll cycle of resting spores is more active than that of vegetative cells. Previous studies have shown that the xanthophyll cycle and the increase of the molar ratio of xanthophyll pigment to Chl. *a* play various important roles for photoprotective mechanisms, such as dissipation of excessive energy and quenching of active oxygen. Thus, it is thought that these changes in pigment composition and content in resting spores increase survival under light-excess environment conditions.

More than 80% of resting spores survived for about four weeks under conditions of high light intensity and nutrient depletion, but most vegetative cells died (more than 99%) in this period under similar conditions. Surviving resting spores still maintained an active xanthophyll cycle and germinated when they were inoculated into fresh culture media. From these results, we conclude that the xanthophyll cycle of resting spores of *Chaetoceros pseudocurvisetus* increases survival under unfavorable environmental conditions, such as under high light intensity with nutrient

¹⁾ 1998年2月5日受付, 1998年4月24日受理

depletion.

Key Words: diatom, resting spores, survival, xanthophyll cycle

休眠胞子は主に中心目の浮遊珪藻類が無性的に形成する耐久細胞の一種で、厚い珪酸の被殻に特徴づけられる形態学的な違いから栄養細胞と区別される (Hargraves 1976)。海洋では主に *Chaetoceros* や *Thalassiosira* 属などの沿岸種が休眠胞子を形成することが知られており、形成した休眠胞子がこれらの浮遊珪藻類の個体群の維持に大きな役割を果たしていると考えられている (Hargraves & French 1983, Garrison 1984)。それ故、休眠胞子の形成や生き残りに関する生理生態学的性質を明らかにしてゆくことは、珪藻類の種の維持や、生態系の遷移機構を解析してゆく上で有益といえよう。

休眠胞子は主に、環境水中に溶存珪酸が十分に存在し、窒素やリンが欠乏したときに形成することが知られている (Drebes 1966, Durbin 1978, Garrison 1981, French & Hargraves 1985, Kuwata & Takahashi 1990, Oku & Kamatani 1995)。また最近では、塩分条件や (Oku & Kamatani 1997)、光条件も (Hollibaugh et al. 1981, Helbling et al. 1992, 板倉ほか 1993, McQuoid & Hobson 1996) 休眠胞子の形成に深く関与していることが明らかにされている。休眠胞子は、栄養細胞と比べて、栄養欠乏、低温、高塩分、重金属といった種々の環境因子に対して強い抵抗力を持っており (Durbin 1978, Garrison 1984, Valente et al. 1987, Oku & Kamatani 1997)、このような耐久性から考えれば、休眠胞子は光に対しても高い耐久性を持っていることは十分に予想される。しかし光が照射される条件下での休眠胞子の生き残りや生理過程を詳細に調べた報告は見当たらない。

光照射によって生体内で生産される活性物質の中には、細胞器官の損傷をもたらす有害物質も存在する。したがって強光条件下に置かれている細胞が生き残るには、たとえ細胞が休眠状態であっても、光照射時に受ける過剰なエネルギーの消費・分散や有害物質の消去を行う何らかの生理的機構の存在が必要と考えられる。

光による細胞の破壊を防ぐ生理学的機構の一つとして、キサントフィル色素の働きが挙げられる。この色素は光合成の調節や活性物質の消去剤として働いており (浅田 1976, Raw 1988)、また最近では、キサントフィルサイクルと呼ばれる機構 (光照射によって特定のキサントフィル色素の脱エポキシ化が起こり、暗条件になると生成したエポキシフリーキサントフィルが再びエポキシ化される可逆的な反応過程) を通しても細胞の過剰なエネルギーの分散に関与しているといわれている (Demmig-Adams et al. 1989)。これらのようなキサントフィルの働きは、多くの陸上植物を始めとして、植物プランクトンの栄養細胞についても存在することが確かめられているので (Hager 1975, Demers et al. 1991, Willimões & Monas 1991, Olaizola & Yamamoto 1994, Arsalane et al. 1994)、栄養細胞よりも耐久性に富む休眠胞子にもそれらの存在が予測されるが、まだ確認されていない。

このようなことから本研究では、休眠胞子の光に対する適応性の解明の一環として、キサントフィル色素の組成と、キサントフィルサイクルの存在を中心に調べることにした。まず、光照射時間を一定にした条件下での主要な光合成色素の含量・組成を休眠胞子と栄養細胞について調べてみた。その結果、休眠胞子では栄養細胞と比較して脱エポキシ化されたキサントフィル色素 (ダイアトキサントフィル) の蓄積が見られたので、さらに詳細に調べたところ、休眠胞子では活発なキサントフィルサイクルが存在するとの結論に達した。このような性質を持つ休眠胞子は、栄養細胞よりも光に対する耐久性が強いこともわかった。これら一連の研究結果から、休眠胞子の生

き残りのためにキサントフィル色素が果たしている役割について考察した。

実験方法

休眠胞子を形成する代表的な沿岸性珪藻として知られている、*Chaetoceros pseudocurvisetus* Mangin を実験に用いた。この珪藻は相模湾表層 (34° 51' N, 139.32' E) から 1993 年 7 月に著者の一人、奥が単離した。単離株は、4 倍に希釈した “f” 培地 (Guillard & Ryther 1962) を用い、温度 19°C、光強度 $40 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の条件で、2 週間に一度の植え継ぎで維持された。この株から増大胞子形成直後の生活史のステージのそろった細胞のみをピペット法により分離し、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、ペニシリン G 混液 (Hoshaw & Rosowski 1973) で無菌化した後に、培養実験に供した。

培養には次のような三種類の栄養条件を異にする培地を用いた。1) 栄養十分 (N:P:Si=120:10:170, 単位 μM , 以下同じ)、2) リンは十分に加え窒素とケイ酸を制限 (N:P:Si=20:10:27) 及び、3) 窒素のみを制限 (N:P:Si=20:10:170) した培地である。培地調製用の海水には相模湾表層水を用い、微量栄養素は f/2 培地の調整法に準じて添加した。

培養には 5.5 l のポリカーボネート製ボトルを用いた。光源には白色蛍光灯を用い、光強度は 2π センサーで光合成有効放射を測定し $160 \mu\text{E m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に調節した。明暗周期は 14L:10D、培養温度は 20°C とした。このような培養条件下で培養期間を適当に選択することによって、研究目的に適した栄養細胞や休眠胞子を適宜、収穫することができた。

珪藻類のキサントフィルサイクルは、光照射下でディアディノキサナンチンからダイアトキサナンチンが生成することで特徴づけられる (Hager 1975)。したがって、キサントフィルサイクルの存在を知るには、光照射下でのダイアトキサナンチンの生成・蓄積を確認することが重要である。しかしダイアトキサナンチンの生成量は、光強度はもとより照射時間によっても大きく変化するといわれている (Olaizola & Yamamoto 1994, Arsalane et al. 1994)。そこで、各培養条件下の細胞のダイアトキサナンチンの生成量を相互に比較するために、細胞の収穫は光照射開始 10 時間後とした。

光合成色素の分析はアセトン抽出-逆相 HPLC 法 (奥 1996) でおこなった。手順は以下のようである。珪藻細胞を吸引濾過によりグラスフィルター上に収穫し、これを氷上に置いた乳鉢中のアセトン (窒素通気したもの) に浸し、手早くよくすりつぶしてから共栓付きガラス遠心管に移し、栓をしてテフロンシールテープで密封した。これを直ちに -20°C で保存した。キサントフィルサイクル色素は、光条件の変化に鋭敏に反応して組成が変化するので (Bidigare 1991)、濾過収穫開始から保存までの操作に要する時間は 6 分以内にした。-20°C の条件では、色素は一年程度の期間は安定なことは知られているが (Latasa et al. 1996)、すべての試料は 7 日以内に分析した。

分析に先立ち、遠沈管内の色素抽出物は超音波処理により均一に分散させ、これを低温で遠心分離し (毎分 3000 回転、4 分間)、上澄みを直ちに HPLC 分析に用いた。

逆相カラムには LiChrosphere 100RP (Merck) を用い、メタノール-酢酸アンモニウム緩衝液 (80:20, v/v) からメタノール-アセトン (60:40, v/v) への 4 段階のステップワイズ溶出によって色素を溶離した。この溶出条件で、クロロフィル c_1+c_2 、フコキサナンチン、ディアディノキサナンチン、ダイアトキサナンチン、クロロフィル a 、 β カロテンがこの順に、ベースラインから分離される (奥 1996)。各色素の検出は吸光波長 436 nm で行い、報告されている吸光係数 (Bidigare 1991) を基に色素量に換算した。なお、クロロフィル a は抽出時の分解が著しく HPLC での定量に適さなかったため、分解生成物を含んだ場合でも誤差を少なくできる分光光度法で定量した (Jeffrey & Hallegra-

eff 1987).

培養液中の栄養塩類の測定及び細胞の計数は前報 (Oku & Kamatani 1995) と同様にした。比増殖速度は細胞数をもとに以下の式に従って求めた。

$$\mu_t = [\ln(n_{t+1}) - \ln(n_t)] \times 1 / [(t+1) - t] = \ln(n_{t+1}) - \ln(n_t)$$

但し、 μ_t は培養 t 日目の日比増殖速度、 n_t と n_{t+1} はそれぞれ培養 t 日と t+1 日目の全細胞数である。t 日から t+1 日までの区間で見積もった値を μ_t としたのは、t 日目の時点で持ちうる細胞の活性を過大評価しないためである。

結 果

採集した細胞の特徴

条件を異にするステージから採集した *Chaetoceros pseudocurvisetus* の細胞の特徴を Table 1 にまとめた。栄養十分な培養系からは、指数増殖期前期の栄養細胞、Veg(A)と、後期の細胞、Veg(B)を得た。窒素と珪酸を制限した培養系からは、栄養塩類がまだ十分に存在する指数増殖期の栄養細胞、Veg(C)と、窒素と珪酸のいずれもが枯渇し、増殖の静止期に入った状態に置かれている栄養細胞、Veg(D)をそれぞれ採集した。窒素制限培養系においては、栄養塩類が十分に存在する指数増殖期に栄養細胞、Veg(E)を収穫した。これらの栄養細胞の比増殖速度は、0.0~1.5 (day⁻¹)の範囲で、採集したどの試料でも全細胞数に占める栄養細胞の割合は99%以上であった。

さらに窒素制限培養系からは、窒素が欠乏すると急速に休眠胞子を形成する性質を利用して、休眠胞子 (Spores) を採集した。休眠胞子の全細胞数に占める割合は98%以上であった。

主要な色素の細胞含量と組成

採集した細胞の主要な光合成色素、クロロフィル a (Chl a)、フコキサンチン (Fc)、ディアディノキサンチン (Dd)、ダイアトキサンチン (Dt)、キサントフィルサイクル色素 (Dd+Dt) の量、並びにキサントフィルサイクル色素の脱エポキシ化率 (Dt/[Dd+Dt]) を測定した結果を Table 2 にまとめた。

細胞当たりの Chl a 量は、比増殖速度の大きな細胞 Veg(A), Veg(C), Veg(E) で 8.2~15 (fmol cell⁻¹) と高くなっているが、比増殖速度ゼロの細胞 (Veg(D) と休眠胞子 Spores) では低い値 (それぞれ 4.3, 3.3 fmol cell⁻¹) になっている。Fc の細胞含量は Chl a と同様に、比増殖速度の大きい細胞で相対的に

Table 1. Cell stages of *Chaetoceros pseudocurvisetus* in each growth phase under various culture conditions.

Cell stages*	Culture conditions	Days	Nutrient depletion	Specific growth rate μ (day ⁻¹)
Veg(A)	nutrient rich	2	none	0.9
Veg(B)	nutrient rich	3	none	0.4
Veg(C)	N and Si-limited	2	none	1.4
Veg(D)	N and Si-limited	5	N and Si	0.0
Veg(E)	N-limited	2	none	1.5
Spores	N-limited	7	N	0.0

* Veg=vegetative cells (>99%). Spores=resting spores (>98%). These abbreviations are also used in Table 2.

Table 2. Cellular content of major photosynthetic pigments in the diatom, *Chaetoceros pseudocurvisetus*, grown under various light and nutrient conditions.

Cell stages	Pigment content (mean±s.d. fmol cell ⁻¹)					
	Chl. <i>a</i>	Fc	Dd	Dt	Dd+Dt	Dt/[Dd+Dt]
Veg(A)	8.2±0.0	5.8±0.1	2.1±0.1	0.6±0.0	2.7	0.22
Veg(B)	6.7±0.0	4.5±0.3	2.1±0.2	0.6±0.1	2.7	0.22
Veg(C)	15 ±0.0	9.7±0.2	2.7±0.1	1.6±0.1	4.3	0.37
Veg(D)	4.3±0.0	3.4±0.1	2.3±0.1	0.9±0.0	3.2	0.28
Veg(E)	12 ±0.0	8.6±0.4	2.7±0.1	1.0±0.2	3.7	0.27
Spores	3.3±0.0	2.7±0.1	0.4±0.0	1.3±0.1	1.7	0.76

Chl. *a*=Chlorophyll *a*; Fc=fucoxanthin; Dd=diadinoxanthin; Dt=diatoxanthin.

Fc, Dd and Dt were determined by HPLC (n=3), and Chl. *a* was determined by spectrophotometric method (n=2).

高くなっている (Table 2).

キサントフィルサイクル色素 (DdとDt) の細胞含量は、Chl *a*やFcとは異なっている。まず、Ddの細胞含量は比増殖速度に関係なく、どの栄養細胞でも2.1~2.7 (fmol cell⁻¹) の一定した値を示しているが、休眠孢子では栄養細胞の20%以下にまで減少している (Table 2)。しかしDtの細胞含量は、栄養細胞よりもむしろ休眠孢子で高い傾向にある (Veg(C)を除く)。Dd+Dtの含量は栄養細胞では2.7~4.3 (fmol cell⁻¹)と高いが、休眠孢子では1.7 (fmol cell⁻¹)と低い値を示している。したがって、キサントフィルサイクル色素の脱エポキシ化率 (Dt/[Dd+Dt]) は、休眠孢子で高く (0.76)、栄養細胞で低い値 (0.22~0.37) となっている。

細胞の色素含量や組成と細胞の比増殖速度との関係を調べたところ、次のような特徴が見られた。比増殖速度と細胞当たりのChl *a*量の間には明瞭な直線的関係が見られる (Fig. 1a)。しかしこれとは逆に、Chl *a*に対するDd+Dtの存在比は、比増殖速度に対して負の相関関係を示している (Fig. 1b)。換言すれば、比増殖速度の低下や休眠孢子的形成は色素体中のDd+Dtの割合の増加をまねくという関係にある。さらに休眠孢子ではChl *a*当たりのDtの存在比も栄養細胞に比べて著しく高い値を示している (Fig. 1c)。しかもDt/[Dd+Dt]は、休眠孢子でのみ高い値を示し、栄養細胞では比増殖速度に関係なくほぼ一定の値となっている (Fig. 1d)。このように、休眠孢子と栄養細胞で色素の含量・組成に大きな違いが生じていることは、両者の細胞が生理状態を大きく異にしていることを示していると思われる。

休眠孢子におけるキサントフィルサイクルの存在

休眠孢子においてDt/[Dd+Dt]と、Chl *a*に対するDtの存在比がともに高くなっていることは、キサントフィルサイクルが活発に働いている可能性を強く示唆している。そこで、休眠孢子的Chl *a*に対するDd及びDtの存在比を光照射時間との関連において調べ、キサントフィルサイクルの明証を試みた (Fig. 2)。

光照射下でのDdとDtのChl *a*に対する存在比を見ると、休眠孢子への光照射時間が増すとともにDdの値が低下してゆく一方で、Dtの値が高くなっている。このようなDd及びDtの変化は、光照射によってDdの脱エポキシ化によるDtの生成反応が速やかに進行していることを裏付けている。Dtの値が増加した休眠孢子的を暗条件に15時間放置すると、Chl *a*に対するDtの存在比は低下している一方で、Chl *a*に対するDdの存在比は高くなっている。この現象はDtのエポキシ化によるDdの生成反応が進行していることを示している。しかもChl *a*に対するDd+Dtの存在比は、明暗条

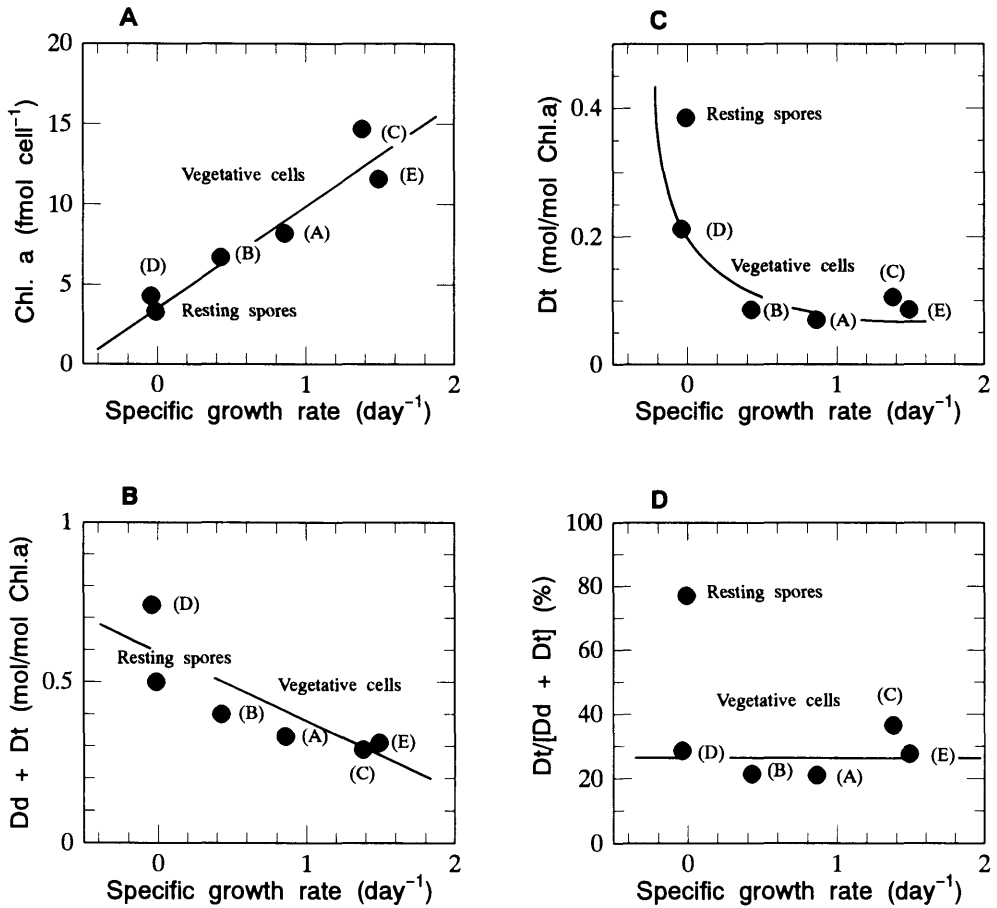


Fig. 1. Relationship between specific growth rate and pigment composition in the marine diatom, *Chaetoceros pseudocurvisetus*, under batch culture conditions. Abbreviations in parentheses of vegetative cells are the same in Table 1.

件のいづれにも拘わらずほぼ一定の値を保っているので、DdとDtの間の相互転換におけるマスバランスは保たれている。

以上の結果は、*Chaetoceros pseudocurvisetus*の休眠孢子では光の明暗周期に鋭敏に反応するキサントフィルサイクルが作動していることを支持するに十分なものと理解されよう。

考 察

色素含量・組成の変化の生理学的意義

キサントフィル類は光捕集の役割だけでなく細胞内の過剰なエネルギーや活性酸素の毒性除去のためにも重要な働きをしているといわれている (浅田 1976, Raw 1988)。例えば、正常に機能している植物細胞でも、光照射に伴って励起Chl *a*や一重項酸素・スーパーオキシドなどの、毒作用を持つ活性物質の生成が起きているが、カロテンやキサントフィルがこれらの励起エネルギーや物質を消去していると説明されている (Raw 1988)。一重項酸素の消去には、供役二重結合の数が8以上のカロテンやキサントフィルが非常に有効であることから (浅田 1976, Raw 1988)、カロテン

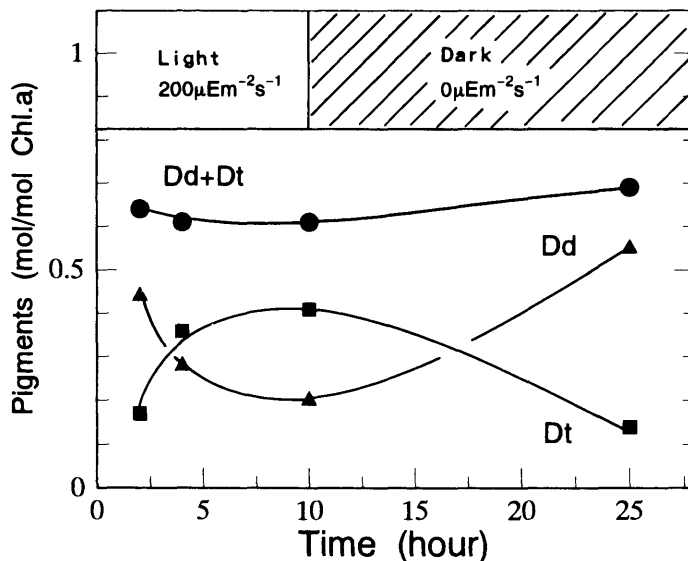


Fig. 2. Changes in composition of xanthophyll cycle pigments concurrent with light exposure time. Resting spores formed under N-depletion were used in this experiments. ●: Dd+Dt; ▲: Dd; ■: Dt.

やFcはもとより、珪藻類に多量に存在するDdやDtも活性酸素の消去に重要な役割を果たしていると考えられる。細胞内に活性物質が生じやすい環境条件では、Chl *a*に対するキサントフィルの存在比の増加が起こることが他の多くの藻類でも観察されている（例えばWillimões & Monas 1991, Geider et al. 1993, Latasa 1995）。このようなことから、休眠孢子形成（あるいは増殖速度の低下）に伴って細胞当たりのChl *a*量が減少する一方で、Dd+Dtは一定量を保ち、その結果としてChl *a*に対するDd+Dtの存在比が増えてゆくという現象（Fig. 1）は、光の利用効率を低下させながら活性物質に対する抵抗性を増加させることにより、細胞を光の害作用から守る保護作用と見るのが妥当ではないかと思われる。

休眠孢子におけるキサントフィルサイクルの役割

キサントフィルサイクルが珪藻類や鞭毛藻類の栄養細胞に存在することは以前から知られていたが（Hager 1975, Demers et al. 1991, Willimões & Monas 1991, Olaizola & Yamamoto 1994, Arsalane et al. 1994）、休眠状態に置かれている細胞（休眠孢子）にそれが存在することを見いだしたのは本研究が初めてである（Fig. 2）。

キサントフィルサイクルの機構と役割は未解明のことが多いが、少なくとも次のような見解が示されている。Ddの脱エポキシ化反応は、増殖に対して光飽和していない条件では起こらないが、光飽和以上では照射光の強度が高いほど活発であることが珪藻類の一種 *Nitzschia palea* (Kütz.) W. Smithで知られている（Willimões & Monas 1991）。このことは、細胞にとって光が過剰になったときにDdの脱エポキシ化が起こることを示唆している。また、光照射による脱エポキシ色素の形成に伴う急激なChl *a*蛍光の消光（non-photochemical quenching）が観察されており、この現象の解析から、キサントフィルサイクルは細胞内の過剰なエネルギーを非放射的に分散する働きがあると指摘されている（例えばDemmig-Adams et al. 1989, Arsalane et al. 1994）。これらのことから、本研究に用いた *Chaetoceros pseudocurvisetus* の休眠孢子では、キサントフィルサイクルとDd+Dtの活性

物質消去作用との両者の働きにより、過剰なエネルギーは速やかに分散されるとともに活性物質の蓄積も未然に防止されているものと考えられる。また、キサントフィルサイクルはNADPHにより駆動する酵素反応であるとの報告 (Hager 1975) から判断して、このサイクルはエネルギー消費的な側面のあるものといえよう。したがって休眠胞子のキサントフィルサイクルは、細胞のエネルギー状態を休眠期の低い状態で一定に保つために、光化学過程で生じた過剰なヌクレオチド類を消費する働きを持っていると考えることもできる。明条件に置かれている *Chaetoceros pseudocurvisetus* の休眠胞子のヌクレオチドや糖リン酸といったエネルギー物質の含量が栄養細胞よりも著しく少ないことも報告されているので (Oku & Kamatani 1995)、キサントフィルサイクルが過剰なヌクレオチド類の消費の機構として働いている可能性は十分にあり、この検証は今後の重要な課題の一つにあげられよう。

休眠胞子における色素組成の変化の意義

以上の考察のように、休眠胞子で見られた色素組成・含量の変化は、この細胞の光に対する耐久性を高めている可能性が高い。そこでこの点を検証するために、増殖を停止した栄養細胞と、休眠胞子の間で光に対する耐久性にどのような違いがあるかを比較してみた。栄養細胞 Veg(D) は窒素と珪酸の枯渇条件、そして休眠胞子 (Spores) は窒素枯渇の条件でこれらを共に温度 20°C、 $160 \mu\text{E m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、14L:10D の環境で 24 日間保存した後の生残率と発芽能を調べた (細胞の生死は便宜的に色素体の有無で判断した)。その結果、休眠胞子はこの強光条件でも 80% 以上の高い生残率を示し、新鮮な培養液に接種すればすぐに発芽・増殖することが分かった。一方、栄養細胞 Veg(D) はこのような環境下での生存割合はほぼゼロであり、新鮮な培養液での増殖も確認されなかった (Table 3)。保存後の休眠胞子を光照射 (10 時間) と暗条件 (24 時間) の 2 つに分け、それぞれの細胞の色素組成を調べたところ、光照射下の休眠胞子では Dt の著しい蓄積が見られ、暗条件では逆に Dd の増加に伴い Dt が減少していたので、この細胞でも明瞭なキサントフィルサイクルの存在することが明らかである。以上の比較から、栄養枯渇環境下に置かれた場合には休眠胞子が栄養細胞よりも光に対する耐久性に富んでいるといえる。休眠胞子のような増殖活性の低い細胞で光照射の有無に応じた活発な色素組成の変化が起きており、これが過酷な環境での生き残りに寄与している可能性のある点は、きわめて興味深いところである。

休眠胞子の形成は、栄養枯渇や十分な光強度の条件で起こりやすいが、形成した休眠胞子は低温・暗条件下で長期間生き残りが可能なこと (Durbin 1978)、また照度や栄養条件が好転すると再び発芽すること (Hollibaugh et al. 1981) も知られている。これらのことから休眠胞子の形成と沈降は、強光・栄養欠乏条件といった光合成を著しく阻害する有光層上部の環境条件から、適当な照度と高栄養塩類濃度を持つ有光層下部への逃避行動ではないかとも考えられている (Hargraves &

Table 3. Survival of vegetative cells and resting spores under conditions of nutrient depleted and high light intensity (24 days after inoculation)

Cell stages*	Dead cells	Living cells	Survival rate	Germination (or growth) in fresh media
	(cell number)			
Veg(D)	1173	1	less than 0.1%	Not observed
Spores	193	895	82%	Observed

* Abbreviations of cell types are shown in Table 1.

French 1983, McQuoid and Hobson 1996)。しかし、本研究の結果では、孢子形成により強光条件への抵抗性が増すような色素組成の変化が見られ、また、栄養欠乏下で光が照射されるような厳しい環境条件での生残率は、休眠孢子の方が栄養細胞よりも遥かに高かったので、休眠孢子の形成は増殖に不適當な条件からの逃避という側面に加えて、栄養や光などの種々の環境条件への抵抗力を総合的に増すような生活史応答と解釈した方がより妥当と思われる。多くの種が十分な光強度の条件の下で孢子形成を行うことや (McQuoid & Hobson 1996)、紫外線の増加が孢子形成の誘導因子であることを示唆する報告 (Helbling et al. 1992) などはこの推論を支持するものといえよう。海洋における休眠孢子の意義・役割をさらに明確にするために、今後は、休眠孢子形成と光環境・色素組成の相互の関連や、暗条件での保存や発芽に伴う色素組成の変化などをさらに多くの孢子形成種について調べ、生理的な現象と生活史・環境要因の関係の詳細を明らかにしてゆくことが肝要である。

謝 辞

本稿について有益なご助言を頂いた二名の校閲者に心から感謝致します。

引用文献

- Arsalane, W., B. Rousseau & J-C Duval 1994. Influence of the pool size of the xanthophyll cycle on the effects of light stress in a diatom: competition between photoprotection and photoinhibition. *Photochem. Photobiol.* **60**: 237-243.
- 浅田浩二 1976. 酸素毒性. 生化学 **48**: 226-257.
- Bidigare R. R. 1991. Analysis of algal chlorophylls and carotenoids, pp. 119-123. In *Marine particles: Analysis and characterization* (eds. Hurd, D. C. & D. W. Spencer). Geophysical Monographs 63. AGU.
- Demers, S., S. Roy, R. Gagnon & C. Vignault 1991. Rapid light-induced changes in cell fluorescence and in xanthophyll-cycle pigments of *Alexandrium excavatum* (Dinophyceae) and *Thalassiosira pseudonana* (Bacillariophyceae): a proton-protection mechanism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **76**: 185-193.
- Demmig-Adams, B., K. Winter, A. Kruger & F-C Czygan 1989. Zeaxanthin synthesis, energy dissipation, and photoprotection of photosystem II at chilling temperatures. *Plant Physiol.* **90**: 894-898.
- Drebes, G. 1966. On the life history of the marine plankton diatom, *Stephanopyxis palmeriana*. *Helgoland Wiss. Meeresunter.* **13**: 101-115.
- Durbin, E. G. 1978. Aspects of the biology of resting spores of *Thalassiosira nordenskiöldii* and *Detonula confervacea*. *Mar. Biol.* **45**: 31-37.
- French, F. W. & P. E. Hargraves 1985. Spore formation in the life cycles of the diatoms *Chaetoceros diadema* and *Leptocylindrus danicus*. *J. Phycol.* **21**: 477-483.
- 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, Florida.
- Geider, R. J., J. L. Roche, R. M. Greene & M. Olairola 1993. Response of the photosynthetic apparatus of *Phaeodactylum tricorutum* (Bacillariophyceae) to nitrate, phosphate, or iron starvation. *J. Phycol.* **29**: 755-766.
- Guillard, R. R. L. & J. H. Ryther 1962. Studies on the marine diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Can. J. Microbiol.* **8**: 229-239.
- Hager, A. 1975. Die reversiblen, lichtabhängigen Xanthophyllumwandlungen im Chloroplasten. *Ber.*

- Deutsch. Bot. Ges. Bd.* **88**: 27–44.
- Hargraves, P. E. 1976. Studies on marine plankton diatoms. II. Resting spore morphology. *J. Phycol.* **12**: 118–128.
- Hargraves, P. E. & F. W. French 1983. Diatom resting spores: significance and strategies, pp. 49–68. In *Survival strategies of the algae* (ed. Fryxell, G. A.). Cambridge University Press, New York.
- Helbling, E. W., V. Villafane, M. Ferrario & O. Holm-Hansen 1992. Impact of natural ultraviolet radiation on rates of photosynthesis and on specific marine phytoplankton species. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **80**: 89–100.
- Hollibaugh, J. T., Seibert, D. L. & W. H. Thomas 1981. Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) species. *J. Phycol.* **17**: 1–9.
- Hoshaw, R. W. & J. R. Rosowski 1973. Isolation and purification: methods for microscopic algae, pp. 53–68. In *Handbook of phycological methods: Culture and growth measurements* (ed. Stein, J. R.). Cambridge University Press, Cambridge.
- 板倉 茂・山口峰生・今井一郎 1993. 培養条件下における浮遊性珪藻 *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* の休眠孢子形成と発芽. 日本水産学会誌 **59**: 807–813.
- Jeffrey, S. W. & G. M. Hallegraeff 1987. Chlorophyllase distribution in ten classes of phytoplankton: a problem for chlorophyll analysis. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **35**: 293–304.
- Kuwata, A. & M. Takahashi 1990. Life-form population responses of a marine planktonic diatom, *Chaetoceros pseudocurvisetus*, to oligotrophication in regionally upwelled water. *Mar. Biol.* **107**: 503–512.
- Latasa, M. 1995. Pigment composition of *Heterocapsa* sp. and *Thalassiosira weissflogii* growing in batch cultures under different irradiances. *Sci. Mar.* **59**: 25–37.
- Latasa, M., Bidigare R. R., Ondrusek M. E. & M. C. Kennicutt II 1996. HPLC analysis of algal pigments: a comparison exercise among laboratories and recommendations for improved analytical performance. *Mar. Chem.* **51**: 315–324.
- McQuoid, M. R. & L. A. Hobson 1996. Diatom resting stages. *J. Phycol.* **32**: 889–902.
- 奥 修 1996. 浮遊珪藻の休眠孢子形成と代謝物質に関する研究. 東京水産大学博士論文. 126 pp.
- Oku, O. & A. Kamatani 1995. Resting spore formation and phosphorus composition of the marine diatom *Chaetoceros pseudocurvisetus* under various nutrient conditions. *Mar. Biol.* **123**: 393–399.
- Oku, O. & A. Kamatani 1997. Resting spore formation of the marine planktonic diatom *Chaetoceros anastomosans* induced by high salinity and nitrogen depletion. *Mar. Biol.* **127**: 510–515.
- Olaizola, M. & H. Y. Yamamoto 1994. Short-term response of the diadinoxanthin cycle and fluorescence yield to high irradiance in *Chaetoceros muelleri* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.* **30**: 606–612.
- Raw, W. 1988. Functions of carotenoids other than in photosynthesis, pp. 231–255. In *Plant pigments* (ed. Goodwin, T. W.). Academic Press, London.
- Valente, R. M., Cospser, E. M. & C. F. Wurster 1987. Interactive effects of copper and silicic acid on resting spore formation and viability in a marine diatom. *J. Phycol.* **23**: 156–163.
- Willemoes, M. & E. Monas 1991. Relationship between grown irradiance and the xanthophyll cycle pool in the diatom *Nitzschia palea*. *Physiol. Plant.* **83**: 449–456.