

## 室蘭産渦鞭毛藻 *Scrippsiella trochoidea* の シスト形成・発芽に及ぼす温度の影響

内 田 卓 志

### Effects of Temperature on the Encystment and Excystment of a Dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea* Isolated from Muroran Harbor, Hokkaido.

Takuji UCHIDA

The effects of temperature (5 °C ~ 22 °C) on the encystment and excystment of a dinoflagellate *Scrippsiella trochoidea* were investigated using a clonal culture obtained from Muroran Harbor, Hokkaido. Encystment was observed above 18 °C but not below 14 °C under a photoperiod of 14 hL : 10 hD. Vegetative cells showed good growth at temperatures above 14 °C. Thus, cysts were formed under conditions favourable for vegetative growth. This may be a reasonable strategy for the survival of the population from the view that vegetative cells produce durable seeds before deterioration of the environment. The cysts of Muroran strain could germinate without low-temperature treatment which is necessary for the excystment of some other flagellates. The cysts could be preserved over 1 year at 5 °C in the dark. On the other hand, vegetative cells could not survive at 5 °C. These findings suggest that *S. trochoidea* survives as cysts in Muroran Harbor during winter when seawater temperature is kept below 5 °C. Excystment occurred at all temperatures tested, although germinated cells could not survive at 5 °C. This character may be unfavourable in maintaining the population of this species. Further examinations are necessary to give ecological meanings to this character of *S. trochoidea*.

**Key words** : *Scrippsiella trochoidea*, cyst, encystment, excystment, temperature

植物性プランクトン個体群の消長を明らかにするためには、栄養細胞の増殖機構のみならず、生活史を通じた研究が重要であることは、多くの研究者によって指摘されている(飯塚・入江1972, ANDERSON *et al.* 1983, 中原・左子 1987, 今井 1992)。特にシストを形成する種にとって、個体群の維持に果たすシストの役割は大きく、ブルーム形成の seed population, 低温期等条件の悪い時期における生残, 底質への沈降による系外流出の回避, 捕食圧からの回避などの役割が考えられている(中原・左子 1987)。従って、植物性プランクトンの生態を研究する場合、シストの存在の確認及びシスト形成・発芽条件の解明は極めて重要である。

*Scrippsiella trochoidea* (STEIN) LOEBLICH IIIは沿岸域に普通にみられる渦鞭毛藻類であ

り、石灰質の殻で覆われたシストを形成することが知られている (WALL *et al.* 1970)。本種は生息水域によって生理的特性の異なることが確認されており、地域による個体群の分化が著しい (WATANABE 1984)。これは地域への定着性が強く、個体群間における遺伝子交換、すなわち有性生殖が行われ難いことを示唆している。このような種は、地域により独自の消長パターンを繰り返している可能性が大きい。

*S. trochoidea* の栄養細胞は、北海道室蘭港において初夏から秋にかけて出現し、冬季には消失する (内田, 未発表)。著者は本種の室蘭港における季節消長を生活史の面から明らかにするために、シストの形成・発芽条件を検討した。本報告においては、温度がシスト形成・発芽に及ぼす影響について述べ、併せて温度からみた本種の室蘭港における生態について考察する。

本研究を行うにあたって御指導及び御助言を戴いた、元北海道大学教授 故阪井與志雄先生に深謝致します。また、原稿の御校閲を賜った、南西海区水産研究所 赤潮環境部長 本城凡夫博士に謝意を表します。

## 材料及び方法

実験に用いた *Scrippsiella trochoidea* の培養株は1977年9月に室蘭港において採取した海水から、マイクロピペット洗浄法により得られたクローン株である (内田 1991)。培養液は濾過海水を栄養強化したもの (BSW 4, UCHIDA 1981) を用い、培養器としてねじ口蓋付試験管 (18×130mm) あるいは、100ml 容三角フラスコを使用した。また、シスト形成及び発芽の観察にはマルチウエルプレート (コースター社製24穴付, 各穴 2 ml 容) を用いた。培養条件は照度2,000~3,000 lx, 照明時間は1日14時間とし、温度は5℃, 10℃, 14℃, 18℃, 22℃に設定した。

### シスト形成に及ぼす温度の影響

14℃で培養した対数増殖期にある栄養細胞を1 ml 中40-100細胞接種し、各設定温度で15日間培養した後、形成されたシスト及び遊泳細胞を顕微鏡下で計数した。計数には、罫線入りスライドを用いた。

### シストの休眠期間

シストの前駆体である、大型で色素の濃い細胞 (Fig. 1 a) を 2 ml の培養液を入れたマルチウエルプレートに単離し、シスト (Fig. 1 b) を形成するまで毎日明期に観察した。形成されたシストをただちに別のマルチウエルプレートに各穴1個体ずつ単離し、発芽過程を観察した。温度は22℃とし、光条件は明条件 (1日14時間照明) 及び暗条件 (マルチウエルプレートをアルミホイルで包装) の二通りに設定した。

### 低温、暗条件下におけるシストの耐性

22℃において形成されたシストを5℃, 暗条件で保存し、3ヵ月後、1年後、及び2年後にそれぞれ約100個体を22℃, 1日14時間照明の条件に移して培養し、12日後に発芽率を求めた。発芽はFig. 1 d-eに示した発芽細胞を確認することにより判定した。

### シスト発芽に及ぼす温度の影響

22℃で形成されたシストを5℃、暗条件下で約2カ月保存した後、5℃~22℃、14時間照明の条件下で培養し、14日後に各温度における発芽率を求めた。

## 結 果

### シスト形成に及ぼす温度の影響

5℃から22℃の各温度におけるシスト形成及び栄養細胞の増殖の有無を、それぞれTable 1,

**Table 1.** Effects of temperature on the encystment of the Muroran strain of *Scrippsiella trochoidea*.

Temperature	5℃	10℃	14℃	18℃	22℃
Encystment	-	-	-	+	++

- : encystment did not occur, + : less than 10 cysts/ml,  
++ : 50~200cysts/ml.

**Table 2.** Vegetative growth of the Muroran strain of *Scrippsiella trochoidea* under various temperatures.

Temperature	5℃	10℃	14℃	18℃	22℃
Vegetative growth	-	+	++	++	++

- : cells died, + : 1,000~3,000cells/ml,  
++ : 6,000~10,000cells/ml.

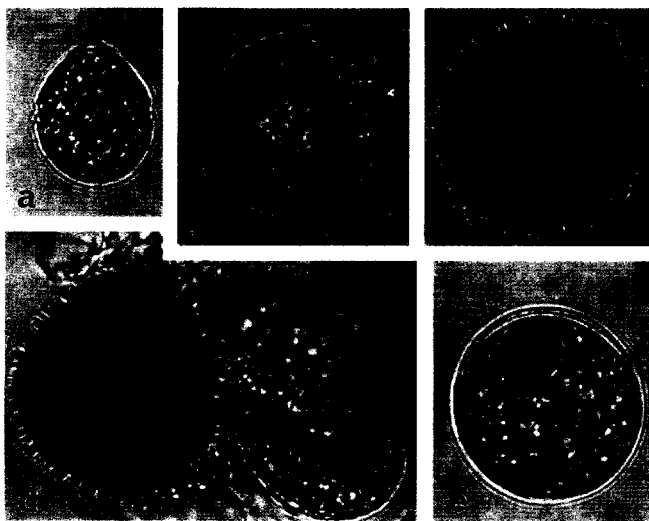


Fig. 1. Encystment and excystment of *Scrippsiella trochoidea*. a: vegetative cell, b: pre-encystment cell, c: typical calcitic spiny cyst, d: excystment, e: germinated cell from cyst, magnification of a-e: ×1,100.

2に示す。シスト形成は18℃、22℃の温度でみられ、22℃で最も活発であったが、14℃以下では観察されなかった。シスト形成は栄養細胞接種後、7～10日目位から観察され始めた。すなわち、渡辺他(1982)が播磨灘から単離した株で明らかにしたように、大型で暗褐色の遊泳細胞が動きを停止した後、表面に刺のある厚膜を形成し、シストとなった(Fig. 1b, c)。

栄養細胞の生長は10℃以上でみられ、14℃～22℃で活発であった。これに対して5℃では栄養細胞は生長せず、すべて死滅した。

シストの休眠

形成直後のシストを22℃、1日14時間照明の条件において培養し、発芽に要する日数を測定した。その結果、発芽はシストを形成してから、26～53日後に観察された。このように、個体による差はあるものの、シストの成熟・発芽にはある程度の休眠期間が必要と考えられる。

暗条件において培養したシストは、単離してから2カ月後でも発芽は認められなかった。この結果からシストの発芽には光が必要であり、シストの保存は暗条件に置くことが有効であると考えられた。

低温・暗条件下におけるシストの耐性

一般的に植物性プランクトンのシストはその種が不適な環境を過ごすための生活環段階であり、シストを形成する種は海底においてシストの状態越冬している可能性が高い。ここでは、低温・暗条件下におけるシストの耐性について明らかにするため、5℃、暗条件下で一定期間保存したシストについて発芽率を調べた。その結果(Table 3)、シストの発芽率は3カ月後と1

**Table 3.** Germination rate of cysts of Muroran strain of *Scrippsiella trochoidea* preserved at 5℃ in the dark.

Preservation period	3 months	12 months	24 months
Germination rate (%)	47	38	3

年後では、それぞれ47%、38%と大きな差はなかったが、2年後には3%と著しく低下していた。

シスト発芽に及ぼす温度の影響

5～22℃各温度におけるシストの発芽の有無をTable 4に示す。シストの発芽は試験した温度全てにおいて観察されたが、5℃では発芽細胞はすべて死滅し、栄養細胞の増殖には至らなかった。これに対して10℃以上では発芽細胞の分裂により、栄養細胞の増殖が得られた。

**Table 4.** Effects of temperature on the excystment of the Muroran strain of *Scrippsiella trochoidea*.

Temperature	5℃	10℃	14℃	18℃	22℃
Encystment	±	+	+	++	++

± : cysts germinated but germlings did not survive,  
 + : less than 10% cysts germinated,  
 ++ : more than 30% cysts germinated.

考 察

本研究で用いた室蘭産 *Scrippsiella trochoidea* のシストは18℃以上で形成され、14℃以下では観察されなかった。しかし、渡辺他 (1982) は本種の播磨灘株が10℃~30℃の広い温度範囲でシストを形成することを報告している。このように同一種でも生息する地域によってシスト形成や増殖の最適条件等の生理的な性質が異なることは、渡辺 (1984) が *S. trochoidea* の播磨灘株と大船渡株を用いて明らかにしている。これらの結果は、同一種でも地域ごとに個体群が分化しており、環境条件に対する応答など生態的な特性が異なることを示している。

室蘭株のシストが形成される温度条件は、遊泳細胞の増殖にも好適であり、遊泳細胞の増殖が活発な時期にシスト形成が行われることが明らかとなった。この点、同種のお株で報告されている研究結果と一致する (WALL *et al.* 1970, 渡辺他 1982, 渡辺 1984)。したがって *S. trochoidea* の場合、温度からみれば、増殖条件が悪くなってからシストを形成するのではなく、増殖条件の良い時期にシストを形成し、増殖条件の悪い時期に備えるという生存様式を持つものと考えられる。このように栄養細胞の増殖に好適な条件でシスト等の休眠胞子を形成する例は幾種かの鞭毛藻類で知られており、確実に次世代を残すことができる点で有利である (中原・

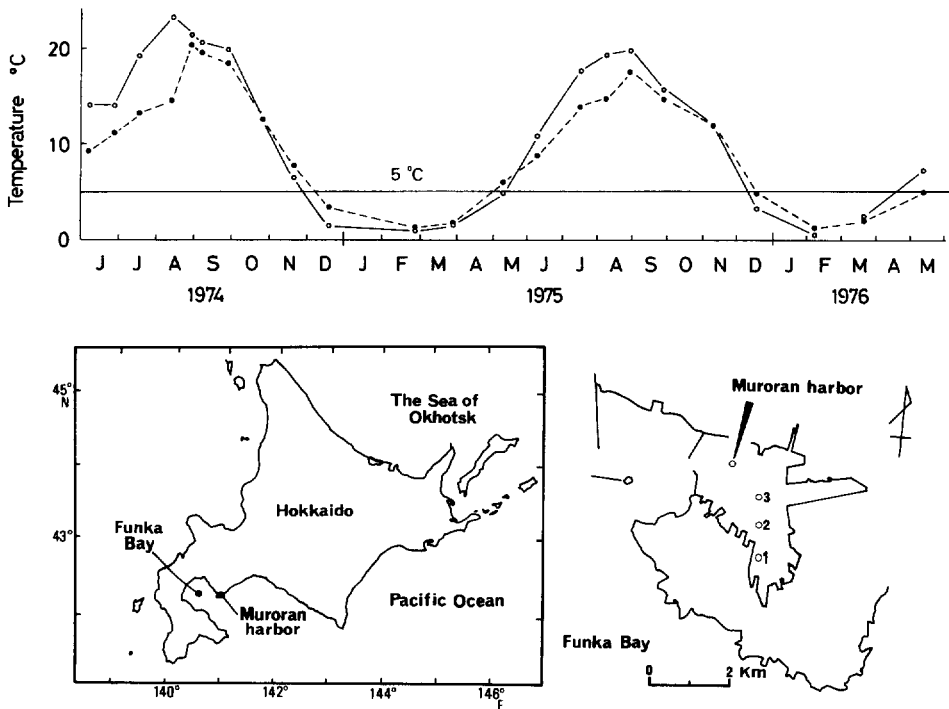


Fig. 2. The annual change of seawater temperature of Murooran Harbor, Hokkaido (a) and the location of Murooran Harbor (b) (Uchida 1981). a: each surface (○) and bottom (●) seawater temperature is an average value of the three stations indicated in b. b: depth of the three stations was 7-14m.

左子 1987)。室蘭港における水温の周年変化をみると (Fig. 2, UCHIDA 1981), 18℃以上になる時期は表層で7~9月であり, 温度からみた限りではこの時期に *S. trochoidea* のシスト形成が行われていると推察される。

本株のシストは, 形成時と同じ温度条件で発芽した。発芽までに要した期間は22℃, 1日14時間照明の条件下で26~53日であった。渦鞭毛藻類のシストの休眠期間は淡水藻である, *Peridinium gatunense* の12時間という極めて短い例もあるが (PFIESTER 1977), 通常数週間から6カ月程度であること (PFIESTER and ANDERSON 1987) から考えると, 本株の場合は平均的な値と言える。また, 他の鞭毛藻類では, シストの発芽に一定期間低温に置くなど, 休眠を解除するための処理が必要な場合があるが (左子 1985, 今井 1990), 本株のシストは形成時と同じ培養条件下で成熟・発芽し, 休眠解除のための処理は特に必要としなかった。したがって天然において, 本株のシストは冬季の低温期間を経ないでも, 光その他の環境条件を整えば発芽可能と考えられる。

温度耐性について調べたところ, 本株のシストは5℃暗条件において1年間保存したもので38%, 2年間保存後も3%のシストが発芽可能であり, 低温耐性の強いことが明らかとなった。これに対して遊泳細胞は5℃ではすべて死滅したことから, 5℃以下の低温に対する耐性はないと判断される。Fig. 2に示したように, 室蘭港における水温は12月~4月には表層, 底層ともに5℃以下となる。したがって, 本株の遊泳細胞は室蘭港において越冬することは不可能であることから, 港内における遊泳細胞の出現が港外からの移入に依存しているのであれば, 本株はシストの形態で越冬していると考えるのが妥当である。

シストの発芽は5~22℃の広い温度条件で観察された。室蘭港の水温は5~11月がほぼこの温度範囲にあることから (Fig. 2), この時期に光その他の環境条件が満たされれば, 本株のシストは発芽できるものと考えられる。ただし, 5℃ではシストの発芽は可能であるものの, その結果生じた発芽細胞は生存することができなかった。これは, 本株のシストは必要な条件を整えば, その後の遊泳細胞の生存に関わりなく発芽することを示しており, 個体群の維持という面からは不利な特性であると言わねばならない。この点については, 今後さらに生態的な適応の観点から検討を重ねる必要がある。

## 文 献

- ANDERSON, D. M., S. W. CHISHOLM and C. J. WATRAS, 1983: Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. *Marine Biology*, **76**, 179-189.
- 飯塚昭二・入江春彦, 1972: 大村湾の赤潮発生環境と発生要因。「内湾赤潮の発生機構 (入江春彦他編)」, 日本水産資源保護協会, 東京, 35-57.
- 今井一郎, 1990: 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する生理生態学的研究. 南西水研報, **23**, 63-166.
- 今井一郎, 1992: 瀬戸内海のシャットネラ赤潮におけるシストの生態的役割. 月刊海洋, **24**, 33-42.
- 中原紘之・左子芳彦, 1987: 淡水植物プランクトンの生活史。「淡水赤潮 (門田元編)」, 恒星社厚生閣, 東京, 21-77.

- PFIESTER, L. A., 1977 : Sexual reproduction of *Peridinium gatunense* (Dinophyceae). *J. Phycol.*, **13**, 92-95.
- PFIESTER, L. A. and D. M. ANDERSON, 1987 : Dinoflagellate reproduction. In "The biology of dinoflagellates." ed. TAYLOR, F. J. R., Blackwell, Oxford, 611-648.
- SATO, Y., Y. ISHIDA, H. KADOTA and Y. HATA, 1985 : Excystment in the freshwater dinoflagellate *Peridinium cunningtonii*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **51**, 267-272.
- UCHIDA, T., 1981 : The relationships between *Prorocentrum micans* growth and its ecological environment. *Sci. Pap. Inst. Algal. Res. Fac. Sci. Hokkaido Univ.*, **7** 17-76.
- 内田卓志, 1991 : 室蘭産 *Scrippsiella trochoidea* の有性生殖. 日本誌, **57**, 1215.
- WALL, D., R. R. L. GUILLARD, B. DALE, E. SWIFT and N. WATABE, 1970 : Calcitic resting cysts in *Peridinium trochoideum* (STEIN) LEMMERMANN, an autotrophic marine dinoflagellate. *Phycologia*, **9**, 151-156.
- 渡辺信, 1984 : 渦鞭毛藻 *Scrippsiella trochoidea* の有性生殖と培養株間にみられた生理的分化について. 「有性繁殖を行う藻類の種個体群における生活環制御様式と種の分化」昭和58年度文部省科学研究費補助金(総合A)研究成果報告書(研究代表者: 舘脇正和), 33-42.
- 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導条件について. 国立公研報, **30**, 27-42.