



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	北海道，噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン， <i>Alexandrium tamarense</i> の生態学的研究
Author(s)	宮園， 章
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	乙第6941号
Issue Date	2014-12-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r6941
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60384
Type	doctoral thesis
File Information	Akira_Miyazono.pdf



北海道，噴火湾における麻痺性貝毒原因プランクトン，

Alexandrium tamarense の生態学的研究

(Ecology of the harmful dinoflagellate *Alexandrium tamarense*,

a causative organism of the paralytic shellfish poison

in Funka Bay, Hokkaido.)

宮 園 章
Akira Miyazono

平成26年（2014）

目 次

第1章 序論

1-1 緒言

1-2 *A. tamarense* の生態と生活史

1-3 噴火湾におけるホタテガイ養殖漁業と麻痺性貝毒の発生

1-4 噴火湾における麻痺性貝毒研究

1-5 噴火湾の海洋環境

1-6 本研究の目的

1-7 本研究の構成

第2章 噴火湾における *Alexandrium tamarense* の個体群動態と生物学的特性

第 1 節 西部沿岸域における *A. tamarense* ブルーム

2-1-1 緒言

2-1-2 材料と方法

2-1-3 結果および考察

2-1-3-1 *A. tamarense* のブルームパターンの経年比較

2-1-3-2 *A. tamarense* のブルームと水温・塩分・密度との関係

第 2 節 噴火湾産 *A. tamarense* の増殖特性

2-2-1 緒言

2-2-2 材料と方法

2-2-2-1 培養実験

2-2-2-2 増殖に及ぼす温度と光強度の影響

2-2-2-3 増殖に及ぼす日長の影響

2-2-2-4 増殖量の測定

2-2-2-5 増殖速度の計算

2-2-2-6 現場の水中光の観測

2-2-3 結果

2-2-3-1 増殖に及ぼす水温と光強度の影響

2-2-3-2 増殖に及ぼす日長の影響

2-2-3-3 現場の水中光の経時変化

2-2-4 考察

2-2-4-1 水温と増殖速度

2-2-4-2 光条件と増殖速度

第3節 噴火湾産 *A. tamarense* シストの発芽特性

2-3-1 緒言

2-3-2 材料と方法

2-3-2-1 海底堆積物の採集と処理

2-3-2-2 シスト密度の計数

2-3-2-3 シストの発芽活性の見積もり

2-3-2-4 発芽細胞の種同定

2-3-3 結果

2-3-3-1 シスト密度の季節変化

2-3-3-2 シスト密度の堆積物中の鉛直分布

2-3-3-3 発芽活性と温度の関係

2-3-3-4 *A. tamarense* シストにおける発芽活性の季節変化

2-3-4 考察

2-3-4-1 シスト密度の季節変化

2-3-4-2 シスト密度の堆積物中の鉛直分布

2-3-4-3 発芽活性の季節変化

第4節 *A. tamarense* の個体群動態

2-4-1 緒言

2-4-2 材料と方法

2-4-2-1 環境データから推定される栄養細胞の増殖速度およびシストの発芽率

2-4-2-2 増殖および発芽過程の個体群動態における役割

2-4-3 結果と考察

2-4-3-1 個体群動態と栄養細胞の増殖特性およびシストの発芽特性

2-4-3-2 個体群動態における栄養細胞の増殖過程およびシストの発芽過程の評価

2-4-3-3 *A. tamarense* ブルームの発生機構とシストの役割

第3章 噴火湾における *Alexandrium tamarense* のブルーム発生履歴の評価

第1節 海底堆積物中のシストの鉛直分布による *A. tamarense* ブルーム発生履歴の評価

3-1-1 緒言

3-1-2 材料と方法

3-1-2-1 コアサンプルの採集

- 3-1-2-2 岩相記載
 - A 肉眼および軟エックス線写真によるコアの観察
 - B 乾燥かさ密度
 - C 帯磁率
 - D 鉱物組成および軽石の観察
- 3-1-2-3 シストサンプル処理および計数
- 3-1-3 結果
 - 3-1-3-1 岩相記載
 - A 肉眼および軟エックス線写真によるコアの観察
 - B 帯磁率
 - C 鉱物組成および軽石の観察
 - 3-1-3-2 シストの堆積物中の鉛直分布
- 3-1-4 考察
 - 3-1-4-1 コアの連続性
 - 3-1-4-2 火山灰層の同定と年代モデル
 - 3-1-4-3 シストの堆積年代推定
 - 3-1-4-4 シスト密度極大相の形成とその解釈

第2節 噴火湾における *A. tamarense* シストの長期生存能力の評価

- 3-2-1 緒言
- 3-2-2 材料と方法
 - 3-2-2-1 コアサンプルの採集
 - 3-2-2-2 コアサンプルの堆積年代推定
 - 3-2-2-3 シストサンプルの処理および計数
 - 3-2-2-4 *Alexandrium* シストの分子同定
 - 3-2-2-5 *A. tamarense* シストの生残性
 - 3-2-2-6 *A. tamarense* シストの発芽成功率
 - 3-2-2-7 *A. tamarense* シストの顕微鏡観察
- 3-2-3 結果
 - 3-2-3-1 コアサンプルの堆積年代
 - 3-2-3-2 *A. tamarense* シストの堆積物中の鉛直分布
 - 3-2-3-3 *A. tamarense* シストの発芽能
 - 3-2-3-4 *A. tamarense* シストの発芽成功率
 - 3-2-3-5 *A. tamarense* シストの顕微鏡観察
- 3-2-4 考察

- 3-2-4-1 *A. tamarense* シストの長期生残性
- 3-2-4-2 形態観察
- 3-2-4-3 培養した 30～32 cm 層の単離シストが発芽しなかった理由
- 3-2-4-4 シストの生残と嫌気条件
- 3-2-4-5 過去に発生した *A. tamarense* の大規模ブルーム

第4章 総合考察

- 4-1 噴火湾産 *A. tamarense* の生存戦略
- 4-2 環境要因の長期的変動傾向とブルーム発生
- 4-3 噴火湾における麻痺性貝毒規模拡大への対応と戦略

要 約

Summary

謝 辞

引用文献

第1章 序 論

1-1 緒言

Alexandrium tamarense (Lebour) Balech 1995 は渦鞭毛藻綱 (Dinophyceae) に属する単細胞生物である (Fig. 1). 水産業との関わりでは、濾過捕食性二枚貝に蓄積される麻痺性貝毒を産生する有毒プランクトンとして知られている (福代 2000). 麻痺性貝毒はサキシトキシン, ネオサキシトキシン, ゴニオトキシンなど十数成分が知られており, 毒化貝を摂食した人に中毒を起こす. その症状は運動神経麻痺による唇, 舌, 顔面の痺れであり, 重篤な場合には呼吸麻痺により死亡に至る (今井・板倉 2007). このように致死的な症状をもたらす麻痺性貝毒については, 食の安全安心を確保するために, 毒化した二枚貝を市場に流通させないことが求められる. 現在の北海道では, 漁獲した二枚貝の貝毒検査とともに貝毒原因プランクトンのモニタリングが行われ, 貝毒発生による中毒事故を未然に防止する体制が確立している. 北海道における麻痺性貝毒の原因プランクトンに関する調査, 研究は 1970 年代後半に始まった. 原因生物を特定する調査, 研究に始まり, 原因プランクトンの季節的消長や分布動態を把握する調査, 研究へと展開し, 現在はこれら調査, 研究の知見に基づく原因プランクトンの動態モニタリングプログラムが確立し, 継続されている (北海道立水産試験場 2000). 他方, 二枚貝の増養殖産業を育成発展させるために, 貝毒プランクトン研究に求められるのは貝毒発生予測技術の開発であるが, 現場観測結果に基づく環境要因データからブルーム形成予測をする試みはまだ少ない

(嶋田・小松 1999). *A. tamarense* の増殖特性は, 多様な生息域を反映し多様である (例えば Yentsch et al. 1975, Watras et al. 1982, 石丸 1985, 山本ほか 1995, 山本・樽谷 1997). このため, たとえば噴火湾における *A. tamarense* のブルーム動態の予測技術開発には, 噴火湾産の *A. tamarense* の増殖特性やシストの発芽特性などの基礎的知見が不可欠であるが, こうした研究の取り組みはほとんどない. このような背景から, 本研究は, 噴火湾における *A. tamarense* のブルームの予測技術を開発するために必要な *A. tamarense* の生態に関する基礎知見を得ることを目的として実施された.

1-2 *A. tamarense* の生態と生活史

Alexandrium tamarense は渦鞭毛虫門 (Dinoflagellata), 渦鞭毛藻綱 (Dinophyceae), *Peridinium* 目, *Gonyaulax* 科に属する. 本種は 1925 年に Lebour によって *Gonyaulax tamarens* と命名された後, 1979 年に Taylor によって *Protogonyaulax tamarens* という名称が提案されたが, 1995 年に Balech によっ

て *Alexandrium tamarense* という学名が与えられた (Balech 1995). 本種は終生をプランクトンとして過ごすのではなく、生活史の中に休眠シスト期 (底生期) と栄養細胞期 (プランクトン期) を持つ一時性プランクトン (meroplankton) である (Fig. 2). シストは複相 ($2n$) 世代である. シストから発芽した発芽細胞 ($2n$) が分裂し、減数分裂を経て栄養細胞 (n) となり、無性的な細胞分裂により増殖する. 無性的な増殖過程は外的、内的な環境変化をきっかけに有性生殖過程に切り替わる. 栄養細胞は配偶子を形成し、配偶子は接合により運動性接合子 ($2n$) を形成したのち、不動接合子 (シスト) となる.

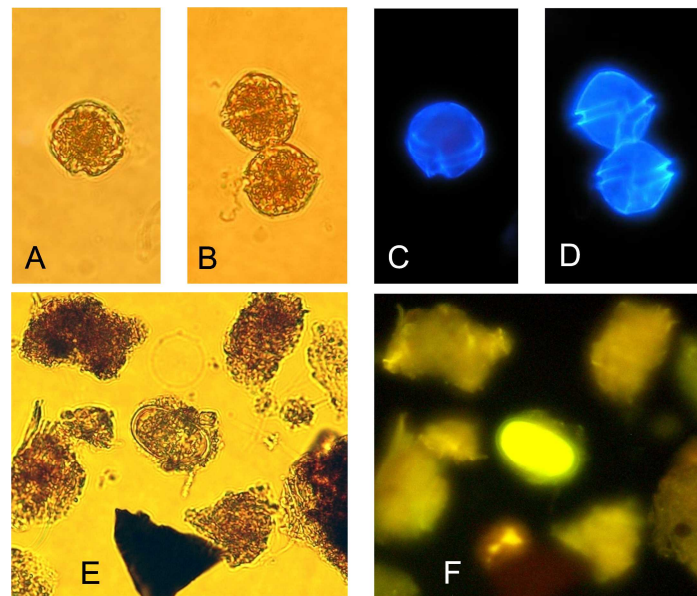


Fig. 1. *Alexandrium tamarense*, A, B; light micrograph of the vegetative cells under normal light (A; single cell, B; two cell chain, C, D; epifluorescence micrograph of the vegetative cells stained with calcofluor white observed under UV excitation (C; single cell, D; two cell chain), E; light micrograph of the cyst under normal light, F; epifluorescence micrograph of the cyst stained with primulin observed under blue excitation.

噴火湾の *A. tamarense* は1年のうち2月～6月の約5ヶ月をプランクトンとして水中で過ごし、残りの約7ヶ月はシストとして海底堆積物中で過ごす. 栄養細胞は無性的な2分裂を通じて増殖し、ブルームを形成する. *A. tamarense* は南部と東部イングランド、スコットランド、ノルウェーからポルトガルに至るヨーロッパ西部沿岸、フェロー諸島、アメリカ大西洋沿岸のメイン州から北緯40度まで、アルゼンチン、日本、韓国、ロシア、タイ、カナダ南西部、ベネズエラ、台湾南部に分布し、さらには北極海にも分布が確認されている (Balech 1995, Natsuike et al. 2013). 日本では、本種の分布は北海道、東北で当初報告されたが (Kawabata et al. 1962, Shimada et al. 1996, 嶋田 2000, Ishida and Sonoda 2003),

その後分布域が西日本に広がった (Asakawa et al. 1995, 一見ほか 2000, Itakura et al. 2002, Imai et al. 2006). 本種の分布の広がりには環境的な要因の他に人為的な経済活動が深く関与し, 二枚貝の移植や船舶バラスト水に混入した栄養細胞やシストが生きのまま輸送され, 本来本種が分布しなかったエリアにも分布が拡大したと考えられている (Hallegraeff 1993, Scholin et al. 1995, Lilly et al. 2002, Penna et al. 2005, Bolch and de Salas 2007, 長井 2007).

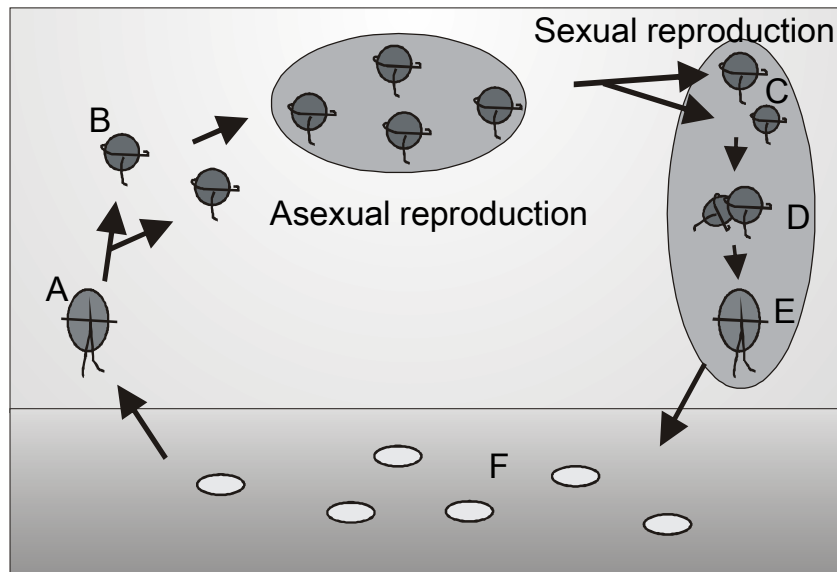


Fig. 2. Life cycle of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. Stages are identified as follows: A; germinated cell, B; vegetative cells, C; gametes, D; fusing gametes, E; planozygote, F; hypnozygotes. Modified from Anderson (1998).

1-3 噴火湾におけるホタテガイ養殖漁業と麻痺性貝毒の発生

噴火湾におけるホタテガイ養殖漁業は 1950 年代に始まった. 1960 年代の養殖技術向上に伴い 1970 年代には湾全体に養殖エリアが拡大し, 1990 年代には年間生産量 10 万トンを超える一大産業へと成長を遂げた. 年による増減はあるものの, 現在では約 12 万トン (1990~2009 平均) の養殖ホタテガイが毎年生産され, 北海道で生産されるホタテガイの約 1/3 を占めている (北海道水産部 1982-1992, 北海道水産林務部 2012). 噴火湾のホタテガイ出荷時期は現在周年にわたるが, 麻痺性貝毒が発生して規制値を上回ると生鮮出荷が規制される (北海道ほたて流通食品協会 2011). 生鮮出荷規制後の加工向け出荷についても, 毒性値によって厳しく制限が加えられるため, 計画的な生産に大きな障害となる. 噴火湾では, 1970 年代後半から 1990 年代前半にかけて麻痺性貝毒によりホタテガイが頻繁に高毒化した. このため, 噴火湾の漁業者は養殖技術の改良

を通じて貝の成長を促進させることにより，貝が高毒化する前に出荷するという養殖サイクルを確立し，貝毒問題にうまく対応した（西浜 2000）．しかし，1990 年代半ば以降は麻痺性貝毒の低毒化年代となり，現在ではふたたび周年出荷サイクルになっている（北海道水産林務部 2012）．

1-4 噴火湾における麻痺性貝毒研究

1975 年，三重県尾鷲湾で *Gonyaulax catenella* の赤潮が発生し，アサリとイガイが毒化したこと（Hashimoto et al. 1976）を契機にして，環境庁（現環境省）等による「有毒プランクトンによる貝類の毒化に関する総合研究」が実施された（環境庁水質保全局 1977）．北海道においては 1976 年にサロマ湖や噴火湾の養殖ホタテガイを対象に麻痺性貝毒の定期検査がスタートしたが，当時の北海道では麻痺性貝毒の原因種は特定されていなかった（西浜ほか 1979）．1978 年 6 月末に噴火湾の養殖ホタテガイに強い麻痺性貝毒が検出されたが，赤潮の形成は確認されなかった．この年のプランクトン調査の結果，嫌疑種として *Gonyaulax catenella* 類似種が報告された（西浜ほか 1979）．このように原因種が特定された後，そのプランクトンの季節的消長や鉛直分布などに関する調査が精力的に行われた（西浜ほか 1980, Uchida et al. 1980, 嶋田・西田 1995, 1996, Shimada et al. 1996）．

貝毒原因プランクトン研究はその出口として，貝毒発生の予知，予察をすることを目的としてきた．Shimada et al. (1996) は詳細な環境データと分布調査を組み合わせ，本種が発生する環境条件を検討した．その結果，本種ブルーム発生の条件として，水温，塩分，水柱の鉛直安定度の重要性が指摘された．しかし，これらの条件はブルーム形成の必要条件であったものの十分条件ではなく，実用的なブルーム規模の予測は困難であった（嶋田・小松 1999）．一方，有毒プランクトンのシスト分布調査は，1979，1985，1991～1993 年に行われた（福代 1980，パスコ（株）1991，金子ほか 1993, 1994, 1995）．その後，新たに開発された正確なシスト計数の技術（Yamaguchi et al. 1995）を活用して，噴火湾を含む北海道周辺海域における広域シスト分布調査が 1999, 2000 年に行われた結果，噴火湾内には最大で $2,568 \text{ cysts g}^{-1} \text{ wet sediment}$ が海底の表層堆積物中に分布していることが明らかとなった（Shimada and Miyazono 2005）．他方，貝毒発生による生鮮貝の出荷は毒量検査によって厳しくコントロールされる体制が整い，同時に貝毒プランクトンモニタリングとして麻痺性貝毒原因プランクトン調査が続けられ，毎年の麻痺性貝毒の発生と毒力上昇および下降時期の推定などに活用されている．

1-5 噴火湾の海洋環境

噴火湾は北海道南西部に位置する半閉鎖性の水域である。湾の長軸は北西から南東方向に伸びている。北緯 42°00'~42°35' および東経 140°18'~141°00' に位置し、平均と最大の深度はそれぞれ 38 m および 97 m である。噴火湾は表面積 2,315 km² で、東向きに約 30 km の幅の浅い開口部によって北太平洋に繋がっている。噴火湾の水は秋から冬の津軽暖流水の流入と春から夏の親潮水の流入によって年に 2 回の大規模な海水交換がある（大谷 1971, 大谷・木戸 1980）。津軽暖流は、津軽海峡を通過して日本海側から太平洋側に抜ける対馬暖流の分枝である。親潮は北部太平洋において反時計回りに流れる亜寒帯冷水である。噴火湾の表面水温は 3 月の 5°C 以下から 8~9 月の 20°C 以上まで季節変化が大きい（嶋田ほか 2000）。塩分は比較的安定しており、31~34 psu の範囲にある（嶋田ほか 2000, Odate and Imai 2003）。噴火湾の下層の水は春から秋にかけて表層水とは独立しており、水温 0~5°C を維持する（大谷 1971）。溶存酸素は冬期には高いが (> 6.0 mg L⁻¹), 夏から秋にかけて低くなる (< 3.0 mg L⁻¹)（奥村ほか 2011）。噴火湾の水中懸濁物の吸光特性は春季ブルームの前後で大きく変化する（Sasaki et al. 2005）。噴火湾では春季ブルームの他に秋に小さなクロロフィル a の増加がある（Radiarta and Saitoh 2008）。

1-6 本研究の目的

本研究においては、約 30 年にわたる噴火湾の西部沿岸域における *A. tamarense* ブルームの発生パターンを整理し、現場調査と併せ、実験室において本種の栄養細胞の増殖条件とシストの発芽生理に関する基本的な検討を行い、ブルーム形成におけるシストの生態学的役割を明らかにすることを目的とした。また、海底堆積物中のシストの分布状況と発芽能力についての調査、実験を行い、噴火湾における麻痺性貝毒の発生において海底堆積物中のシストの果たす生態学的意義を評価し明らかにすることを目的とした。

1-7 本研究の構成

本論文は全 4 章で構成されている。本章の序論に続いて、第 2 章第 1 節では 1981~2012 年の期間、噴火湾の西部沿岸域（落部と八雲）で実施されてきた麻痺性貝毒プランクトンのモニタリング結果を用い、32 年間の海域環境と *A. tamarense* の長期変動の関係を検討し、本種の季節的消長と環境要因との関係について整理した。第 2 節では室内培養実験から *A. tamarense* 栄養細胞の増殖に及ぼす温度と光強度の影響を調べ、他海域の *A. tamarense* 株との対比から環境諸要因に対する噴火湾産 *A. tamarense* の増殖特性を明らかにしようとした。第 3

節では現場調査と培養実験によって沿岸域における *A. tamarense* のシストについて発芽活性の季節変化を調べ、噴火湾産 *A. tamarense* シストの発芽特性を明らかにした。第 4 節ではこれらの知見を統合し、*A. tamarense* の個体群動態について栄養細胞の増殖特性およびシストの発芽特性からの説明を試み、本種ブルーム形成におけるシストの役割を考察した。第 3 章では、噴火湾における沖合域堆積物中の *A. tamarense* シストの鉛直分布の特徴と発芽能力を明らかにし、本湾での発芽の履歴を明らかにする試みを行った。第 4 章では、以上の成果を総括し、噴火湾における *A. tamarense* の生存戦略、及び今後の *A. tamarense* ブルームの発生規模について論じると共に、海底堆積物中に埋没している本種シストの持つ潜在的な麻痺性貝毒の発生拡大の可能性についてリスクマネージメントの観点から検討を加えた。

第2章 噴火湾における *Alexandrium tamarense* の 個体群動態と生物学的特性

第1節 西部沿岸域における *A. tamarense* ブルーム

2-1-1 緒言

噴火湾における麻痺性貝毒プランクトンのモニタリングは北海道立水産試験場によって1981年にスタートした。以来、モニタリングデータが積み重ねられている。その間、1980年代から1990年代前半までは麻痺性貝毒によって二枚貝類が高毒化した年代であり、1995年以降は麻痺性貝毒の低毒化年代が続いている。1979年に噴火湾の沿岸域における *A. tamarense* の消長がはじめて南部湾口部の砂原沖（水深68 m）で季節的に調査された結果、*A. tamarense* は4月下旬に表層に出現し、6月上旬に表層で最大細胞数に達し（約3,800 cells L⁻¹）、分布層を10～30 m層に移したのち8月には消失していることが判明した（西浜ほか1980）。このとき、本種の消長は好適な水温条件（8～12℃）によって説明された。その後、モニタリングデータの積み重ねと広域分布調査等のデータ解析から、本種ブルーム発生の条件は水温5～11℃、塩分31.5～33.0 psuであり、水温躍層の発達に伴う水塊の鉛直安定度の上昇が重要であることが明らかとなった（Shimada et al. 1996, 嶋田 2000）。また、嶋田（2000）は珪藻群集との関連に着目し、本種の出現時期が春季珪藻ブルーム後に相当することから、水理環境の好適化と珪藻が少ない生物環境が本種ブルームの主要な発生条件であると指摘している。2000年以降は本種ブルームの規模が小さな年が続いている中で、本種の消長パターンと環境との関係は十分に整理されていない。そこで、32年間にわたるモニタリングデータを概観し、本種のブルームの発生パターンと環境要因の変化との関係を整理した。

2-1-2 材料と方法

貝毒プランクトンモニタリングは1981年から1992年までは落部定点で、1993年から2012年までは八雲定点で実施した（Fig. 3）。落部定点、八雲定点ともに水深約35 mである。調査は毎月1～2回、水温と塩分の観測とプランクトン計数用試料の採水が行われた。水温と塩分は1992年以降の調査では原則としてCTD（Seabird SBE-19）を使用した。1991年以前はバンドン採水後、水温はただちに棒状温度計により計測し、塩分は塩分検定用試水を採取した後、サリノメーター（渡部計器製作所 601MK-III）で測定した。プランクトン計数用試水はバンドン採水後、1 L ポリビンに採取した。試水は実験室に持ち帰ったのち、ホウ砂で中性にした市販のホルマリン溶液（ホルムアルデヒド37%）を試水1 L

に対して 20 ml を添加して固定した．沈殿法により 1 L を 10 ml に濃縮後，光学顕微鏡下で一定量（1～2 ml）を観察し，*A. tamarense* を計数した．本章では水温，塩分および *A. tamarense* の計数結果を解析に用いた．また，海水密度（ σ_t ）は水温と塩分から計算した．モニタリングの実施機関は 1981 年から 2009 年までは北海道立水産試験場，2010 年以降は地方独立行政法人北海道立総合研究機構水産研究本部である．使用したデータは毎年の上潮・特殊プランクトン予察調査報告書から引用した（北海道 1982-2010，地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道 2011-2013）．

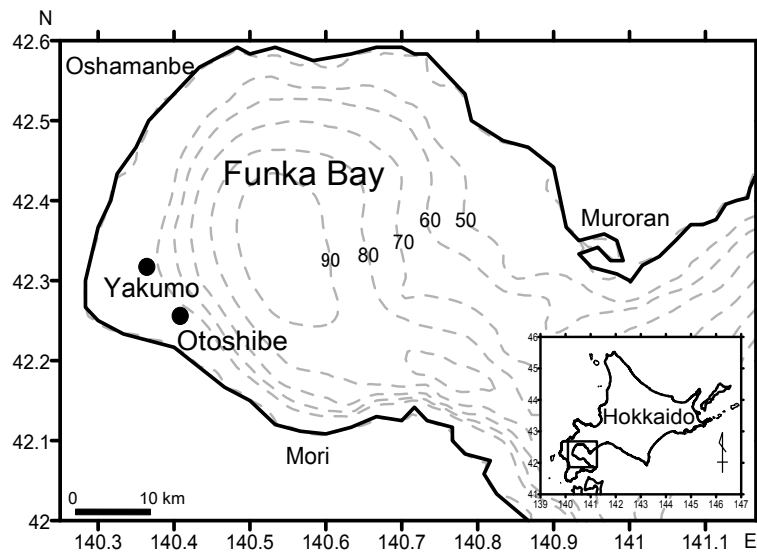


Fig. 3. Sampling stations of Hokkaido HAB (Harmful Algae Bloom) monitoring program in coastal area of western Funka Bay. Otoshibe station was from 1981 to 1992, and Yakumo station is the present station since 1993. Dotted lines indicate bottom depth (m).

2-1-3 結果および考察

2-1-3-1 *A. tamarense* のブルームパターンの経年比較

A. tamarense のブルームパターン解析のため，出現深度に関わらず，その年最初に栄養細胞が観測された月を初期個体群形成（S），最大細胞数を記録した月をブルームピーク形成（P），栄養細胞が消失した月をブルーム消失（E）に区分，整理し，ブルーム規模の指標としての最大細胞数（MAX）とともに示した（Table 1）．モニタリング記録には，1984 年と 1988 年の秋以降に *A. tamarense* の観察結果が記載されている．このうち，1988 年の秋のホタテガイの毒化は *A. catenella* によることが報告されており（林 1989, 1990），これがモニタリング記録として残されていると考えた．1984 年についても同様の可能性があったため，両年の秋以降に記録されている *A. tamarense* の観察結果は解析から除外した．

初期個体群形成は1～5月の間にあり、2、3月の観測例がそれぞれ、全体の20、50%を占めた。ブルームピーク形成は3～8月の間にあり、4、5、6月の観測例がそれぞれ、全体の25、33、22%を占めた。ブルーム消失は4～10月の間にあり、5、7、8月の観測例がそれぞれ、全体の16、34、及び22%を占めた。

Table 1. Summary of *A. tamarense* bloom pattern from 1981 to 2012. S (hatched by light gray): the month when *A. tamarense* was first detected in each year. P (hatched by gray): the month when the maximum cell density was observed. E (hatched black and white letter): the month when *A. tamarense* was absent. E*: Occurrences of *A. tamarense* were observed in autumn, but these records were omitted, because these records might be the occurrences of *A. catenella*. MAX: maximum density (cells L⁻¹) in the *A. tamarense* bloom of each year. Sf, Pf and Ef mean the number of monthly frequency of S, P and E, respectively.

Year	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	MAX
1981					S	P			E		180
1982			SP	E							60
1983					S		PE				1225
1984		S			P			E*			19000
1985					S			P	E		160
1986		S				P		E			2880
1987			S		P		E				3360
1988			S		P	E*					500
1989				S			P			E	9120
1990		S	P				E				720
1991			S	P			E				540
1992					S	P			E		60
1993			SP					E			60
1994			S			P	E				6740
1995	S					P		E			1740
1996			S		P	E					240
1997				SP	E						60
1998			SP				E				60
1999			S	P	E						440
2000		S			PE						260
2001				SP	E						60
2002			S			P	E				20
2003			S	P				E			320
2004		S			P		E				580
2005	S			P		E					40
2006		S			P	E					200
2007			S	P			E				630
2008			S	P	E						30
2009			S		P		E				960
2010		S			P		E				730
2011			S			P		E			470
2012			S		P			E			60
Sf	2	7	16	3	4						32
Pf			4	8	10	7	2	1			32
Ef				1	5	4	11	7	3	1	32

1981～2012年の平均的なブルームパターンは、初期個体群形成期（3月）、増殖期（4月）、ブルームピーク形成期（5月）、減少期（6月）、ブルーム消失期（7月）に区分できた。初期個体群形成は平均的な3月を除いて1980年代には4、5月の観測例が5回（16%）あるのに対して、1996年以降は、1、2月の観測例

が 6 回 (19 %) あり, 近年, 初期個体群形成の早い年が増えている傾向が認められた. ブルームピーク形成月は 1995 年以前には年によるバラツキが大きいのに対し, 1996 年以降はおおむね 4, 5 月に集中していた. ブルーム消失月も 1995 年以前に比べて 1996 年以降は時期が早くなり, バラツキも小さかった. 全体としては 1996 年以降, ブルーム期間が早めにずれている傾向が認められる.

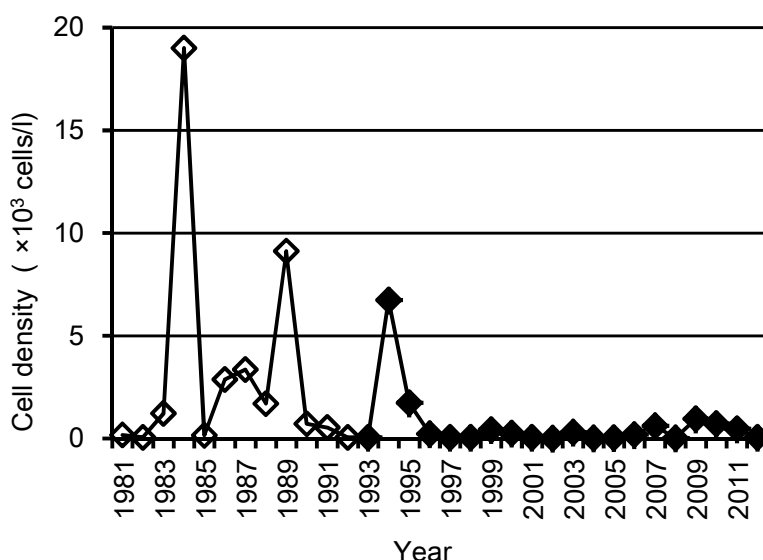


Fig. 4. The variation in maximum cell densities of *A. tamarensis* blooms from 1981 to 2012 at Otoshibe station (◇1981-1992) and Yakumo station (◆1993-2012) in coastal area of western Funka Bay.

各年に出現した *A. tamarensis* の最大細胞数の推移を Fig. 4 に示した. 最大細胞数が $1,000 \text{ cells L}^{-1}$ を越える規模のブルームは, 1981 年から 1994 年の間にのみ発生した. ブルーム規模とブルームパターンの関係を検討するため, 各年のブルームを最大細胞数により 4 つのタイプに区別した. すなわち, 最大細胞数 $\leq 100 \text{ cells L}^{-1}$ のケースを非ブルーム年, $100 < \text{最大細胞数} \leq 1,000 \text{ cells L}^{-1}$ のケースを小規模ブルーム年, $1,000 < \text{最大細胞数} \leq 5,000 \text{ cells L}^{-1}$ のケースを中規模ブルーム年および $5,000 \text{ cells L}^{-1} < \text{最大細胞数}$ のケースを大規模ブルーム年とした. 非ブルーム年, 小規模ブルーム年, 中規模ブルーム年および大規模ブルーム年はそれぞれ, 全体の 31.3, 43.8, 12.3, 9.4 %であり, この 32 年間には非ブルーム年あるいは小規模ブルーム年となるケースが多かった (75 %). これらのうち, 非ブルーム年, 小規模ブルーム年および中・大規模ブルーム年の 3 タイプについて, 初期個体群形成 (S), ブルームピーク形成 (P) とブルーム消失 (E) の月別発生頻度を Table 2 にまとめた. 非ブルーム年には, 初期個体群形成とブルームピーク形成時期はおおむね平均的な時期に発生しているが, ブルーム消失時期が平均的な消失月 (7 月) の前後の月にずれるケースが多かった. また,

非ブルーム年には、初期個体群形成月にブルームピークが記録されているケースが散見された (Table 1, SP). これは初期個体群形成後のブルーム拡大に失敗したケースと考えられる. 小規模ブルーム年はいずれのフェーズも平均的ブルームパターンに近かった. これは小規模ブルーム年の発生頻度がこの 32 年間で最も高いためである. 中・大規模ブルーム年では、初期個体群形成時期が 2, 3 月で比較的早いケースが多かった (57.2 %). ブルームピーク形成は平均より 1 ~ 2 ヶ月遅いケースが多かった. また、ブルーム消失は 7, 8 月であるケースが多かった (85.8 %). 中・大規模ブルームでは初期個体群形成からブルーム発達までが順調に進んだ結果、平均的な (非ブルーム年・小規模年を含む) ブルームパターンより 1~2 ヶ月程度の長いブルーム期間を持つことになったと解釈できる.

Table 2. Comparison of *A. tamarense* bloom patterns among no bloom years (A: maximum cell densities ≤ 1000 cells L⁻¹), and middle-large bloom years (C: 1000 cells L⁻¹ < maximum cell densities). S: the month when *A. tamarense* first detected in each year. P: the month when the maximum cell number was observed. E: the month when *A. tamarense* was absent. The numbers are frequencies (%) of occurrence. Hatched numbers indicate the month when the highest frequency of the phases.

Type	Phase	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.
A: No	S	10.0	0.0	60.0	20.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	P	0.0	0.0	30.0	40.0	10.0	20.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	E	0.0	0.0	0.0	10.0	30.0	10.0	20.0	20.0	10.0	0.0
B: Small	S	0.0	33.3	53.3	0.0	13.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	P	0.0	0.0	6.7	26.7	46.7	13.3	0.0	6.7	0.0	0.0
	E	0.0	0.0	0.0	0.0	13.3	20.0	40.0	13.3	13.3	0.0
C: Middle & Large	S	14.3	28.6	28.6	14.3	14.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	P	0.0	0.0	0.0	0.0	28.6	42.9	28.6	0.0	0.0	0.0
	E	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	42.9	42.9	0.0	14.3

A. tamarense ブルームは、水柱内における栄養細胞の出現、増殖、維持、消失過程から成り立ち、それぞれの過程は環境要因と自身の生理生態学的特性や生活史の影響をうけ、毎年のブルームパターンを形成する. 経年的なブルームパターンの比較により、1980 年代に比べ 2000 年代にはブルーム期間が早くなっていることが分かった. また、非ブルーム年はブルームパターンに乱れが大きいこと、小規模、中・大規模ブルーム年には比較的ブルームパターンが安定し、中・大規模ブルーム年には増殖期間が 2~3 ヶ月持続していることが明らかとなった.

2-1-3-2 *A. tamarense* のブルームと水温・塩分・密度との関係

1981 年から 2012 年までの水柱平均水温と塩分の長期変化を Fig. 5 に示した.

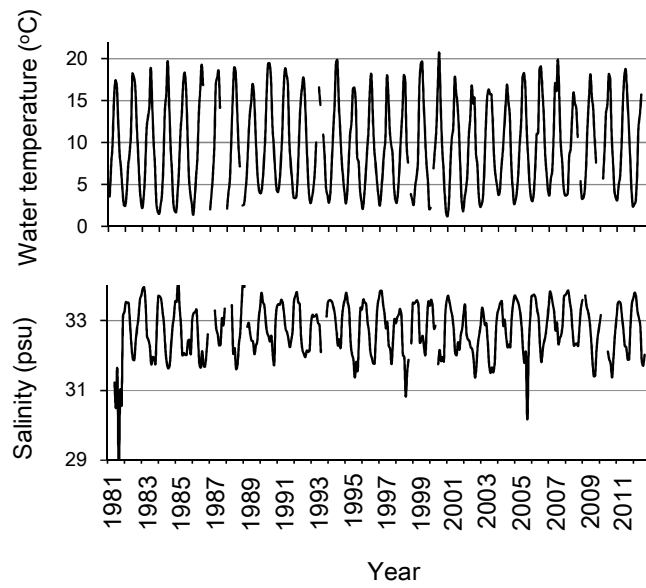


Fig. 5. Long-term variations of water temperature (upper panel) and salinity (lower panel) in western Funka Bay from 1981 to 2012. Monthly data were averaged for dates of seven different depths at Otoshibe station (1981-1992) and Yakumo station (1993-2012).

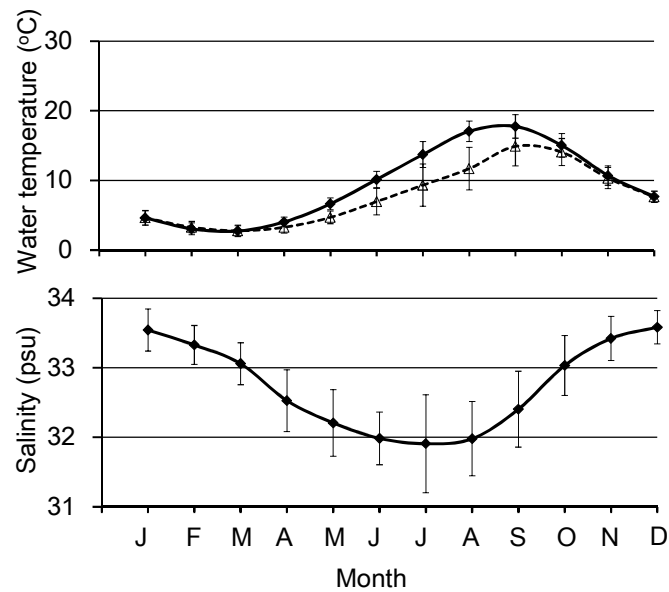


Fig. 6. Monthly averaged water temperature of water column (upper panel, $\blacklozenge$), bottom water temperature (upper panel, $\triangle$), and salinity of water column (lower panel) collected at seven different depths from 1981 to 2012 in coastal area of western Funka Bay (Otoshibe station: 1981-1992, Yakumo station: 1993-2012). Vertical bars indicate the standard deviations.

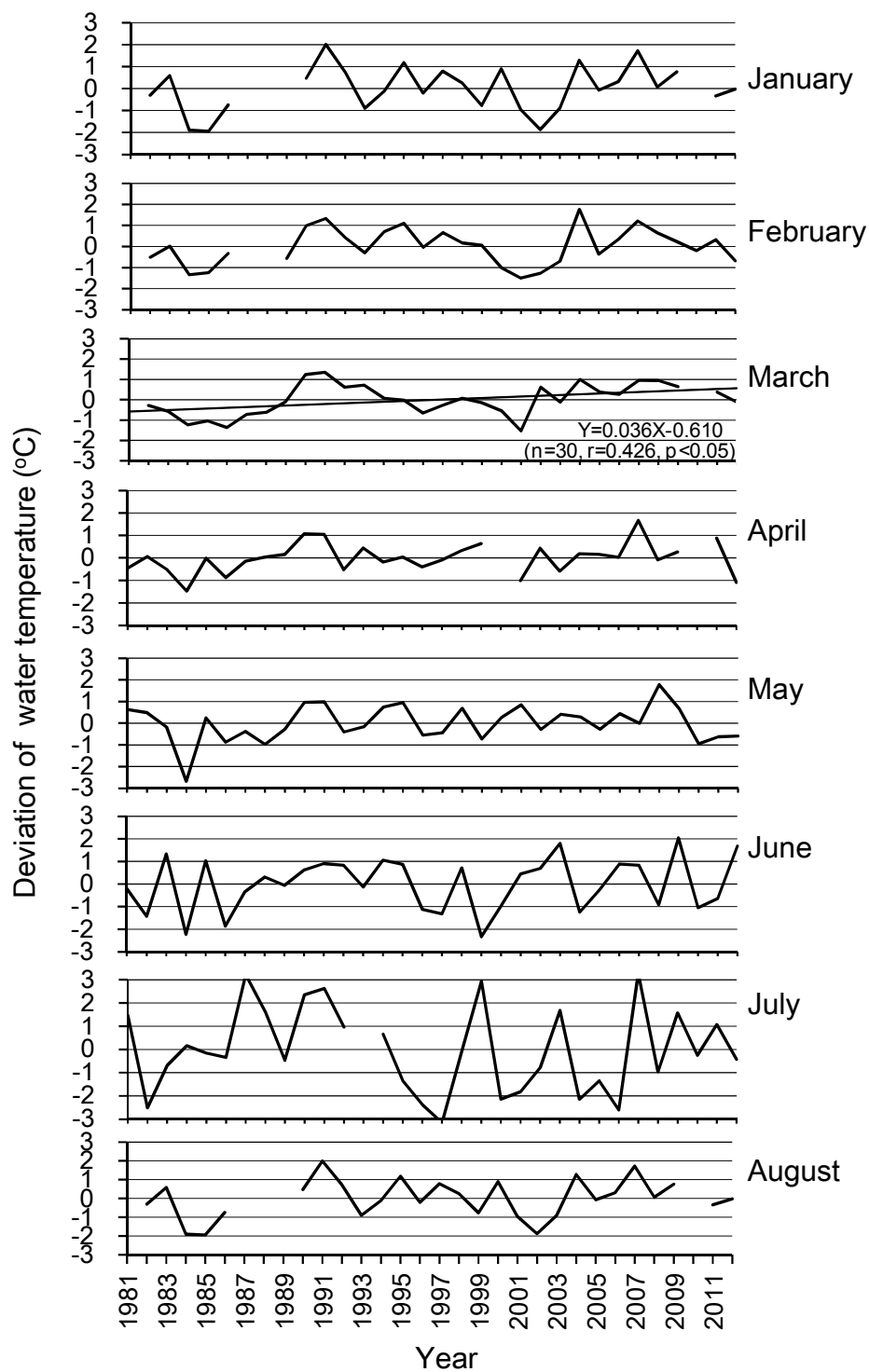


Fig. 7. Long-term variations in deviation of monthly averaged water temperature in coastal area of western Funka Bay. Rising trend of the temperature was detected in March with positive linear regression.

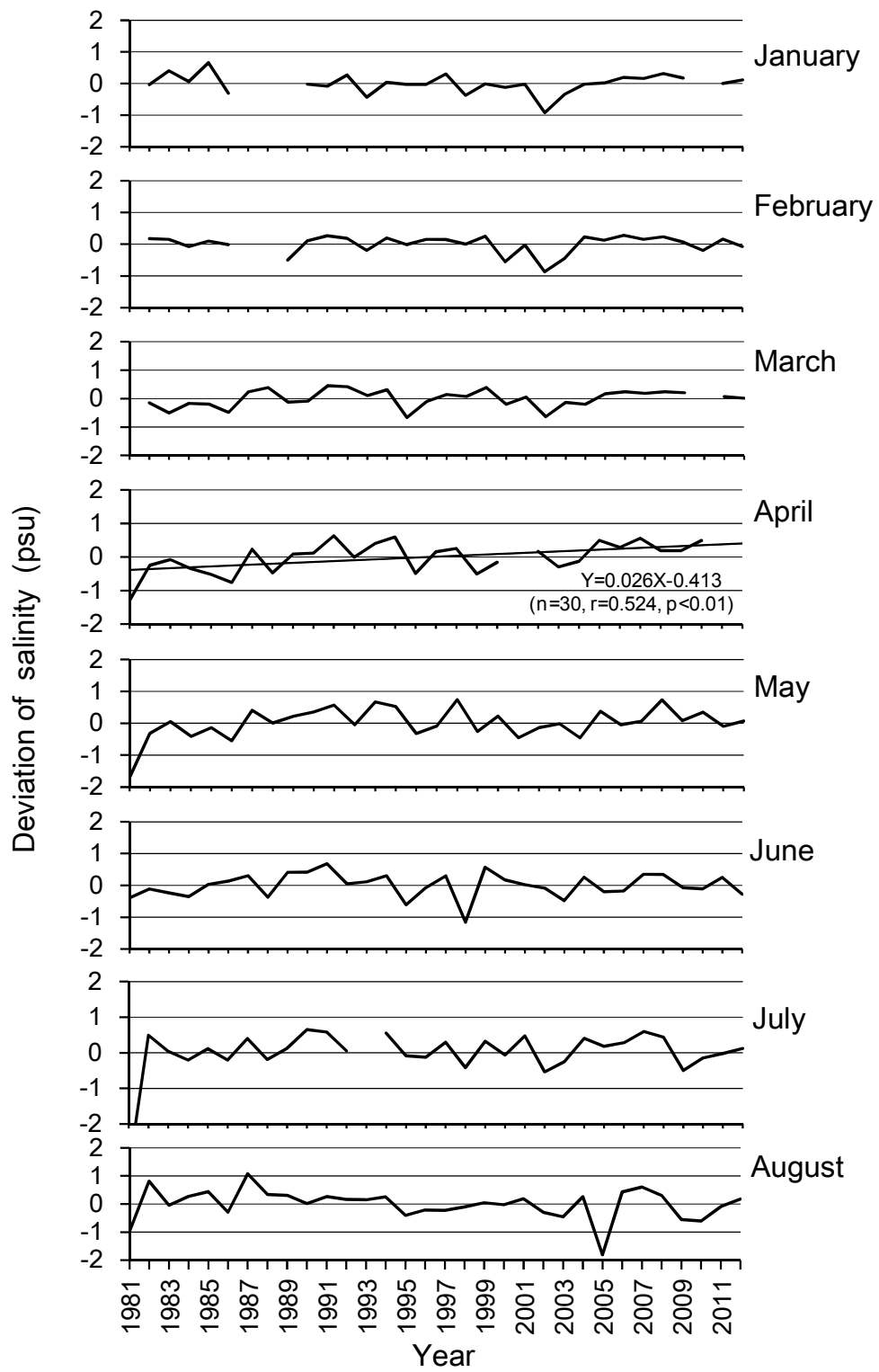


Fig. 8. Long-term variations in deviation of monthly averaged salinity in coastal area of western Funka Bay. Rising trend of salinity was detected in April with positive linear regression.

水温は 2~21°C の範囲で季節的な昇降を繰り返しながら推移しているが、期間を通じた特定のトレンドは認められなかった。塩分は 1981, 1998, 2005 年を例外として 31~34 psu の範囲で季節的な昇降を繰り返しながら変動しているが、同様に期間を通じたトレンドはみられなかった。噴火湾における平均的な水温と塩分の季節変化パターンを知るため、各々の平均値と標準偏差の変化を示した (Fig. 6)。水柱平均水温は 3 月に最低水温 (平均 2.8°C) となり、9 月に最高水温 (平均 17.7°C) を示した。海底直上の水温は 4 月以降 10 月まで水柱平均水温よりも低めに推移し、最高水温も 15°C 程度である。塩分は冬期に高く、12 月に最大塩分 (平均 33.6 psu) となり、夏期に低く、7 月に最低塩分 (31.9 psu) となった。*A. tamarense* の平均的なブルームパターンの場合では、最低水温期 (3 月) に初期個体群の形成があり、最低塩分期 (7 月) にブルームピークの形成があることとなる。

A. tamarense のブルーム期間を含む 1 月から 8 月の間に、月別水温・塩分について経年的な何らかのトレンドがあるか否かを検討した。水温における偏差の月別経年変化をみると (Fig. 7)、3 月に上昇のトレンドがあることが判った。水温の上昇傾向は $0.042^{\circ}\text{C 年}^{-1}$ と見積もられ、1980 年代に比べて 1990 年代、2000 年代はそれぞれ約 0.4°C 、 0.8°C 上昇したことになる。海底直上の水温についても同様に 3 月に上昇のトレンドが認められた。最低水温期の水温が上昇傾向にあることは *A. tamarense* の初期個体群の形成に何らかの影響を及ぼしていると考えられ、*A. tamarense* のブルーム期間そのものが 1996 年以降早まっていることと関係する可能性がある。次に塩分における偏差の月別経年変化をみると

(Fig. 8)、4 月に上昇のトレンドがあることがわかった。塩分の上昇傾向は 0.026 psu 年^{-1} であり、1980 年代に比べて 1990 年代、2000 年代はそれぞれ約 0.26, 0.52 psu 上昇したことになる。例年、4 月は塩分が下降する時期である (Fig. 6)。春の塩分低下は沿岸親潮系水の侵入や雪解け水の流入などが要因となる (大谷 1979, 1981, 長谷川・磯田 1997)。塩分の下降途中の 4 月のみに経年的な塩分の上昇が認められたことから、陸水の流入や沿岸親潮系水の侵入による海水希釈のタイミングが遅れている可能性がある。4 月は *A. tamarense* の初期個体群の形成からブルームピークに至る増殖期に相当しており (Table 1)、4 月の塩分上昇傾向は 1996 年以降のブルーム規模が小さいことと関係し、ブルーム拡大によってマイナス要因となっていると考えられる。

A. tamarense によるブルーム形成の至適環境を把握するため、非ブルーム年、小規模ブルーム年および中・大規模ブルーム年別に T-S-P ダイアグラムを作成した (Fig. 9)。3 つの区分に共通する初期個体群の形成条件は水温 2~6°C、塩分 32.9~33.6 psu であった。小規模ブルーム年にはより低塩分、高水温条件で

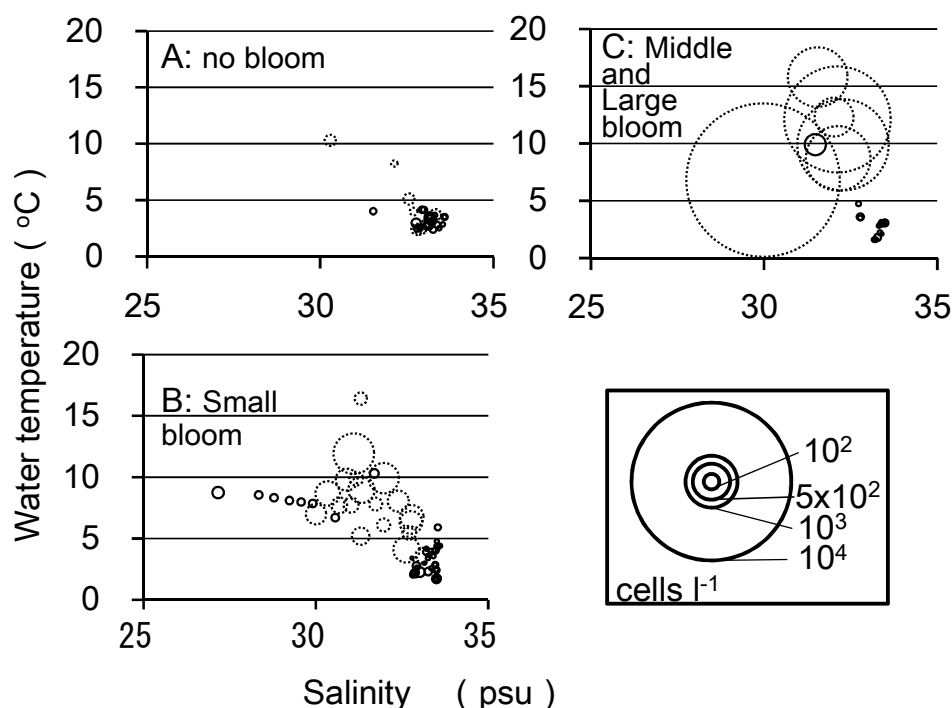


Fig. 9. T-S-P diagrams. Solid circle means cell density of *A. tamarensis* at the first detection. Dotted circle means cell density at maximum cell density of *A. tamarensis* bloom. A: the cases of no bloom years (maximum cell densities were ≤ 100), B: the cases of small bloom years (maximum cell densities were $100 < \leq 1000$), C: the cases of middle and large bloom years (maximum cell densities were > 1000 cells L^{-1}).

初期個体群を形成していた。このことは初期個体群形成時期の遅れを示しており、こういう年にはブルーム形成に失敗する傾向が著しい。中・大規模ブルーム年のブルームピークの形成条件は水温 $6 \sim 16^{\circ}C$ 、塩分 $30 \sim 33$ psu であり、これに比較して小規模ブルーム年では水温条件が低く、塩分条件が高いのは初期個体群の形成からブルームピークまでの期間が短かったことに起因する。このことから、中・大規模ブルーム形成年の水温、塩分範囲が *A. tamarensis* ブルームの至適環境条件と判断できる。これらの値は西浜ほか (1979, 1980) や Shimada et al. (1996) が報告している値とよく一致する。

ブルーム形成には水柱の鉛直安定度が重要であることから (嶋田 2000)、大規模ブルーム年 (1984, 1989, 1994)、小規模ブルーム年ではあるが最近 10 年でブルームが比較的大きかった年 (2009) について *A. tamarensis* の鉛直分布と鉛直安定度との関連を検討した (Fig. 10)。大規模ブルーム年 (1984, 1989, 1994) に共通する *A. tamarensis* の鉛直分布の推移パターンは次の A~E のようである。すなわち、A：初期個体群の形成、B：0~10 m 層を中心とした細胞数の増加、C：全層での細胞数の増加、D：分布中心の中層への移動、E：ブルームの急激な終了である。2009 年の小規模ブルームでは、初期個体群形成期の栄養細胞の

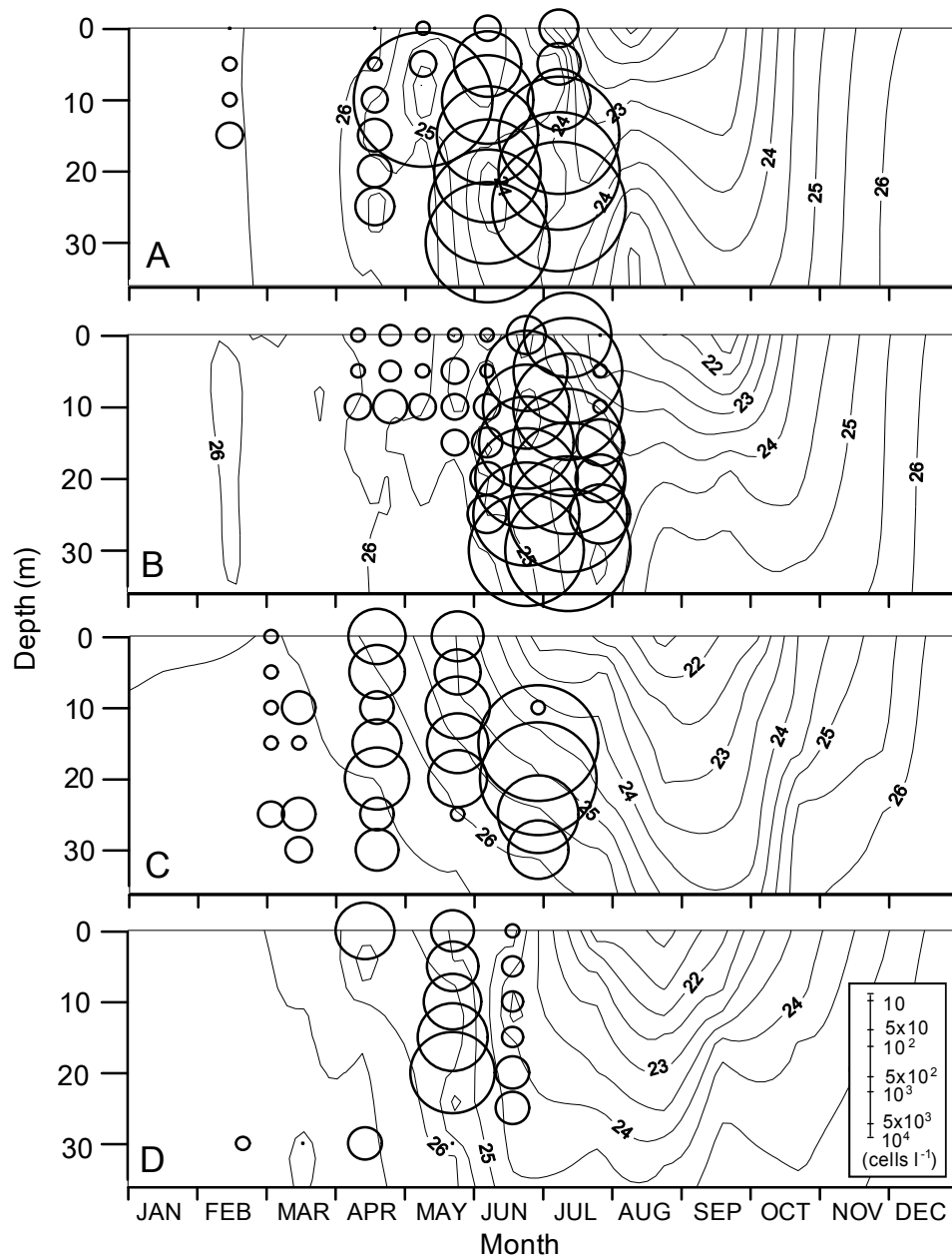


Fig. 10. Seasonal fluctuations of *A. tamarense* blooms with contour of sigma-t in large bloom years (maximum cell density > 5000 cells L^{-1}): 1984 (A), 1989 (B), 1994 (C), and small bloom year ($100 < \text{maximum cell density} \leq 1000$ cells L^{-1}): 2009 (D).

分布が 0 m および 30 m 層に限られたこと、6 月に細胞数が減少してブルームが終息したことが大規模ブルーム年とは異なる特徴であった。σ-t の分布をみると、各年ともに 4, 5 月に弱い密度躍層が一時的に形成され、1994 年を除き、6 月には躍層が解消した。その後、7 月には 10 m 以浅で顕著な密度躍層が形成された。これに対して、1994 年は 4 月から緩やかに密度躍層が発達し、7 月には 10 m 以浅で顕著な密度躍層がみられた。

σ_t の分布と *A. tamarense* の鉛直分布を対比させると、初期個体群の形成期は水柱安定度が低く、海水の鉛直混合期に相当する。それに続く増殖時期は 1984, 1989, 1994 年には密度躍層が形成されており表層を中心に増殖したが、2009 年には密度躍層の形成が弱く中層（20 m 層）に分布の中心が認められた。1984 と 1989 年の大規模ブルームのピーク時には、密度躍層は一時的に解消され、栄養細胞は全層に分布していた。1994 年のブルームピーク時には、栄養細胞は中層を中心に分布し、このとき著しい密度躍層が発達していた。これらを模式的に示すと、大規模ブルーム年（1984, 1989）には 6 月の一時的な密度躍層の解消が共通しており、上述の A～E のフェーズが認められた（Fig. 11）。1994 年には、一時的な密度躍層解消による全層での細胞数増加のフェーズ（C）が欠落し、2009 年には一時的な密度躍層解消が例年より約 1 か月早いことにより表層における細胞数増加のフェーズ（B）が短く、亜表層での細胞数増加フェーズ（D）がなく消失してしまったことが 1984, 1989 年と異なった。

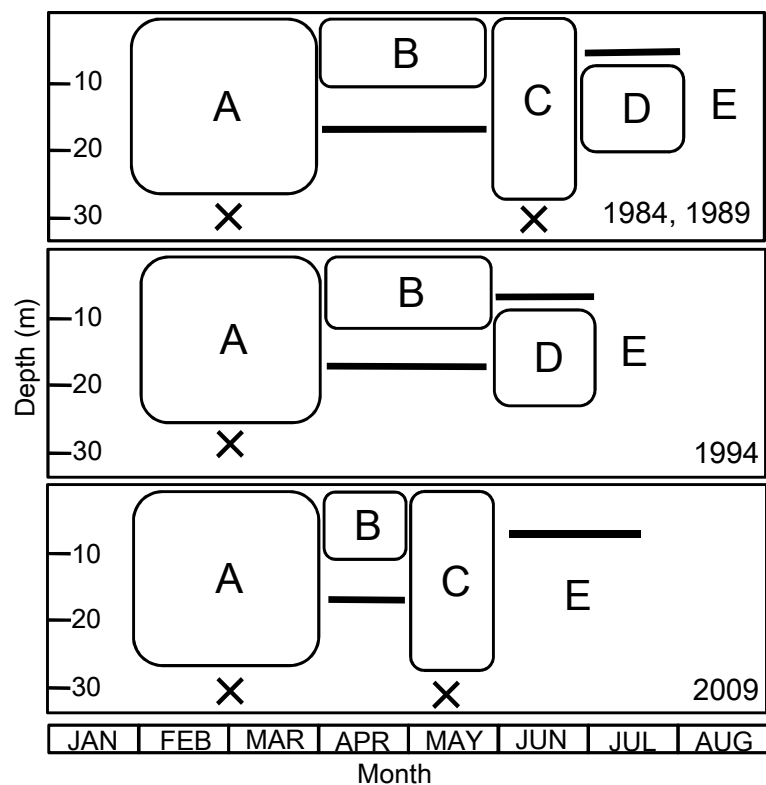


Fig. 11. Schematic diagrams of seasonal fluctuation pattern of *A. tamarense* bloom and pycnocline developing in coastal area of Funka Bay. 1984, 1989 (top panel), 1994 (middle panel), 2009 (bottom panel). A: Formation of initial assemblage of vegetative cells, B: Growth of the bloom in surface layer, C: Growth of the bloom in all layers, D: Growth of the bloom in subsurface layer. E: End of the bloom. Horizontal bars indicate pycnocline and × mean no pycnocline.

西浜ほか（1980）は、本種のブルームが表層での増加期と亜表層での増加期を持つことを観察し、本種の高密度分布は好適水温（10～13℃）に規定されるため、表層水温が 13℃ 以上となるブルーム後期には分布の中心が亜表層に移行すると説明した。嶋田（2000）は噴火湾における *A. tamarense* の詳細な空間分布を調べ、ブルームの形成には水温の好適条件とともに好適な光条件が必要のため、水温躍層の深度が比較的浅いことが沿岸域にブルームの形成が限られている原因としている。*A. tamarense* は鉛直混合期の 1～3 月に初期個体群を形成し、昇温による密度躍層の発達時期の 4～7 月に増殖する。この時期の水柱の鉛直安定条件は、昇温および陸水の流入や沿岸親潮系水による海水希釈に加えて、時化による海水の攪乱などにより不安定であり、季節的な密度躍層の発達や一時的な解消などのタイミングはブルーム形成に強く影響することが示唆される。

Anderson（1998）は、沿岸域や汽水域など物理過程が複雑な場所における *A. tamarense* のブルーム動態には、物理過程とともに本種のもつ遊泳力、鉛直移動、生理学的適応などが複雑に関与するため、全体を理解するのが困難なことを指摘している。噴火湾においても、東部海域（虻田）と南部湾口海域（森）における本種の出現時期はほぼ一致するものの、出現パターンおよび規模は西部海域（落部、八雲）とは一致しない場合が多い（北海道立総合研究機構・北海道 2007-2012）。噴火湾における海況は大きく季節的に変化し、冬～春季にはオホーツク海の融氷水を起源とした沿岸親潮水（亜寒帯系水：低温、低塩分）が噴火湾に侵入し、夏～秋季には津軽暖流水（亜熱帯系水：高温、高塩分）が湾内に侵入している（大谷 1981）。夏季の噴火湾表層には低塩分水を抱えた時計回りの循環流（恒流）が存在し（海洋気象台 1934, 柏村 1963, 大谷 1971）、その起源は 4～5 月に供給ピークを持つ河川からの流入水であることが分かっている（長谷川・磯田 1997）。しかし、それぞれのタイミングや強さは各年毎に大きく変動し、これらが西部沿岸域の海況に強く影響する。噴火湾の西部沿岸域における大規模ブルームの動態に共通点はあるものの、1 つのパターンにあてはまらないのは年々の海況の違いが大きいのが原因と考えられる。

一方、年々の環境変動に伴うブルーム形成規模の変化とは異なる、ブルーム規模の劇的な変化が認められた。すなわち、1981～1995 年に比べて、1996 年以降のブルーム規模は明らかに小さい年が続いている（Fig. 4）。このような出現規模の劇的な変化は 3 月の水温上昇トレンドや 4 月の塩分上昇トレンドでは説明できない。瀬戸内海では劇的な赤潮発生件数の減少や形成種の交代が記録され、その背景には陸域からの汚濁水排出規制の強化があることが知られている

（Imai et al. 2006）。また、デンマークの Mariager Fjord ではこの 100 年間に見ら

れた *Pseudo-nitzschia* 属の種組成変化には人為的な窒素レベル増大が影響していることが指摘されている (Lundholm et al. 2010). これらの例は環境要因の劇的な変化が人為的にもたらされたものである. 噴火湾海域においては, 1970 年代から 1990 年代までの間に冬季の NO_3 濃度には年による変動はあるものの, 瀬戸内海のような栄養塩環境の劇的な変化はなさそうである (Fig. 12). 他方, レジームシフトは地球規模の環境変動であり, 多くの浮類魚や底魚類の資源変動に影響していることが指摘されている (Kawasaki 2002, 二平 2007). Minobe (1997) は 1900 年以降, 1924/25, 1947/48, 1976/77, 1989/90 年に気候レジームシフトが発生したとし, また, Yasunaka and Hanawa (2002) も 1925/26, 1945/46, 1956/57, 1970/71, 1976/77, 1988/89 年にレジームシフトが認められるとした. 研究者によって若干の年度のずれはあるものの, 1988~1990 年頃にレジームシフトがあったと考えられる. 二平 (2007) はレジームシフトの影響が底魚資源量の増減に現れるには数年のタイムラグが必要であり, その理由として各魚種の資源状態と生態学的特徴を挙げている. 北海道における貝毒モニタリングでは 1980~1990 年初めの高毒化年代から 1990 年半ば以降の低毒化年代へのシフトが観測されている (北海道立水産試験場 2000, 工藤ほか 2005). そこでは全道的な現象として, 麻痺性貝毒原因プランクトン, *Alexandrium tamarense* の出現規模の縮小, 下痢性貝毒原因プランクトン, *Dinophysis fortii* の出現規模の縮小が認められている. 以上のことから, 1988~1990 年頃のレジームシフトは数年のタイムラグののち, 噴火湾を含む北海道沿岸における本種のブルーム形成に影響していた可能性がある.

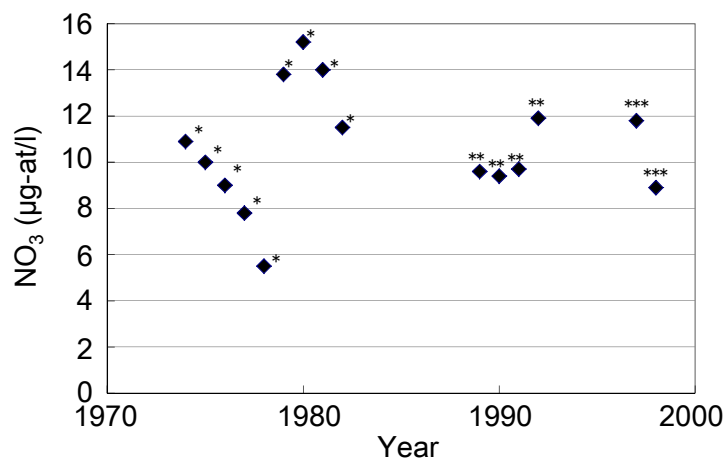


Fig. 12. Long term variation of winter NO_3 concentration in coastal area of Funka Bay. *: data from Nishihama (1982), **: data from Muroran-chiku Fisheries Extension Office (1993), ***: data from Miyazono (unpublished data).

第2節 噴火湾産 *Alexandrium tamarense* の増殖特性

2-2-1 緒言

シストを形成する渦鞭毛藻のブルーム動態は、それぞれの種の持つ増殖生理学的特性, ならびに現場海域の環境要因によってコントロールされるシストの発芽過程の組み合わせにより, 多様なパターンを持つと考えられる (Anderson and Morel 1979, Anderson and Keafer 1985, Ishikawa and Taniguchi 1996, 1997, Perez et al. 1998, Kim and Han 2000, Kremp and Anderson 2000, Itakura and Yamaguchi 2001, Kim et al. 2002). 噴火湾において *A. tamarense* が出現する時の海洋環境, 分布特性等については, 現場調査によって多くの知見が得られている (西浜ほか 1979, 1980, Uchida et al. 1980, Shimada et al. 1996, 嶋田 2000). 第1節では, *A. tamarense* ブルームが小規模化している近年も含めた 32 年間にわたるブルームのパターンについて整理し, 現場において本種のブルームが観察された時の水温と塩分の環境を明らかにした. しかし, 噴火湾産 *A. tamarense* の増殖特性についての知見としては, 増殖に及ぼす照度の影響試験 (西浜・佐藤 1981) があるにすぎない. 多くの研究により, *A. tamarense* が最大増殖速度を発揮する温度条件は株毎に, また採集場所により異なることが知られている (Yentsch et al. 1975, Watras et al. 1982, 石丸 1985, Su et al. 1993, 山本ほか 1995, 山本・樽谷 1997). 噴火湾における本種のブルーム動態を理解するためには, 噴火湾産株の基本的な増殖特性を明らかにする必要がある. そこで本節では, 本種の増殖に及ぼす水温, 光強度, および日長の影響について培養実験を行い, 他海域の株との増殖特性の比較を行った.

2-2-2 材料と方法

2-2-2-1 培養実験

実験に用いた *A. tamarense* は, 1995 年 11 月に噴火湾の西部に位置する八雲沖水深約 35 m 地点 (Fig. 3) から得た海底堆積物中のシストを発芽させ, ピペット洗浄法と対数増殖期の植え継ぎを繰り返し, 細菌による影響を最小限に抑えたクローン株である. 培地には SW II-m 培地 (Sako et al. 1990) を用いた. 培地の塩分は 30 から 32 psu, pH は 7.8 となるようにそれぞれ蒸留水, 希塩酸を用いて調節した. 培養容器にはガラス試験管 (ϕ 13 mm $\times$ 100 mm) を用い, 実験に使用したガラス器具類は十分に洗浄し, 加熱乾燥した. これに培地をそれぞれ 5 ml 加え, オートクレーブ滅菌 (121°C, 20 分) したものを実験に使用した.

2-2-2-2 増殖に及ぼす温度と光強度の影響

培養実験は人工気象室 5 室（コイトロン FR-535a, 小糸製作所）を使用して行った。培養温度は噴火湾における本種の出現時期を想定して, 3, 5, 10, 15, 18°C の 5 段階に設定した。明暗周期は 14-hL:10-hD に設定した。それぞれの温度条件の下で光強度を変えた 2 回の実験を行った。1 回目は弱い光強度, 2 回目は強い光強度を含む条件である。培養条件の詳細は Table 3 にまとめた。

光源には白色蛍光灯を用いた。それぞれの光強度は, 光源からの距離と黒色の遮光ネットを試験管にかぶせることにより, 2~7 段階に調節した。

Table 3. Temperature and light conditions in the culture experiments.

Experiment	Temperature (°C)	Light intensity ($\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$)
1st	3	4, 13
	5	2, 7, 26
	10	2, 5, 22, 34
	15	2, 9, 23, 32, 82
	18	2.4, 11, 22, 35, 71, 87
2nd	3	4, 15, 32, 52, 108, 146, 201
	5	3, 34, 72, 98, 151, 209
	10	2, 32, 61, 118, 263, 556
	15	2, 27, 63, 128, 330, 609
	18	1, 33, 60, 145, 266, 634

Light cycles were 14-h L: 10-h D in all experiments.

培養開始時および培養終了時に, それぞれの実験区における光強度を光量子センサー (LI-COR 社, LI-192SA) によって測定し, その平均値を培養期間中の光強度とした。培養実験はそれぞれの条件で 3 本の試験管を用いて行った。

各実験条件に馴致させるため, 次のように継代培養を行った。温度 15°C, 光強度約 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の条件で培養したものから温度を 1 段階ずつ上昇あるいは下降させた条件に展開した。その条件下での増殖を確認し, 次の温度条件に展開することを繰り返した。最終的に光強度は約 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で, 温度は 3, 5, 10, 15, 18°C の条件に展開した。それぞれの温度条件下で増殖を確認できたものを前培養とした。前培養が対数増殖期であることを確認して, それぞれの光強度条件へ展開し, 実験の本培養を開始した。増殖曲線の対数増殖期における傾きを得ることを目的としたため, 1 回目の試験では培養が対数増殖期を経て定常期に至ることを確認したが, 2 回目の増殖実験では対数増殖が確認された場合には定常期に至る前に実験を終了した。

2-2-2-3 増殖に及ぼす日長の影響

あらかじめ温度条件を 5, 10, 15, 18°C, 明暗周期を 14-hL:10-hD に設定した 4

つの培養室において、それぞれ試験管 3 本立ての前培養を行い、対数増殖期であることを確認後、5°C では平均光強度 $112 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、10°C では $85 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、15°C では $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、18°C では $128 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度下で培養実験を行った。培養実験は同一条件につき試験管 3 本立てで行った。明暗条件は 8-hL:16-hD, 10-hL:14-hD, 14-hL:10-hD, 16-hL:8-hD である。異なる明暗条件は、16-hL:8-hD に設定した培養室において、それぞれの条件の時間に暗箱を培養容器にかぶせることにより設定した。

2-2-2-4 増殖量の測定

本研究では、*in vivo* クロロフィル蛍光を測定することによって *A. tamarense* の増殖過程をモニターした。この方法を用いることにより、試験管中の培養を生かしたまま継続して生物量の変化がモニターできるので、大量、迅速な測定と同時に培養系の汚染もないという利点がある (Brand et al. 1981)。

in vivo クロロフィル蛍光は 10, 15, 18°C の温度条件では 2 日ごとに、3, 5°C の条件では 4 日ごとに定時 (11:00) に攪拌してから蛍光光度計 (Turner Designs 社 Model 10) を用いて測定した。

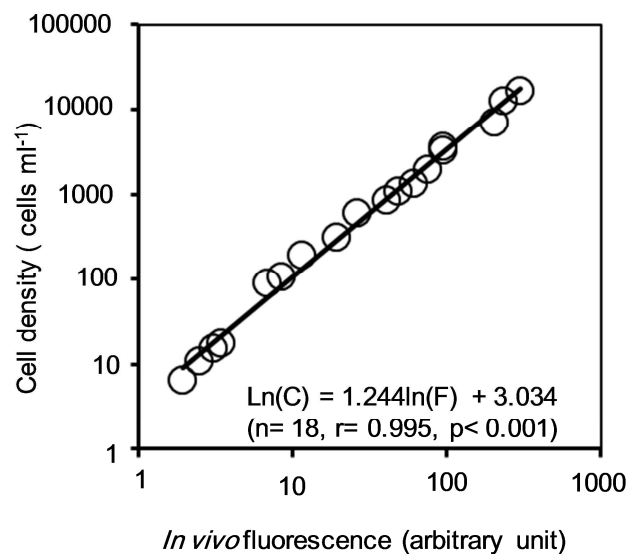


Fig. 13. Correlation between *in vivo* chlorophyll *a* fluorescence and cell density of *A. tamarense*.

2-2-2-5 増殖速度の計算

事前に *in vivo* クロロフィル蛍光と細胞数の関係を次の方法で求めた。温度 15°C、約 $100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の光強度において 18 本の培養を行い、*in vivo* クロロフィル蛍光値の測定により誘導期、対数増殖期および定常期を確認しな

がら、適宜、細胞数計数用のサンプリングを行い、1.4 %ホルマリン海水で固定したのち細胞数を計数した。 *in vivo* クロロフィル蛍光値 (F) と細胞数密度 (C) との関係 (Fig. 13) から (1) 式を得た。

$$\ln (C) = 1.244 \ln (F) + 3.034 \quad \dots\dots\dots (1)$$

$$(r=0.995)$$

増殖速度は、実験で得られた対数増殖期の *in vivo* クロロフィル蛍光値を、(1) 式を用いて変換した細胞数密度を、次の (2) 式に当てはめて最小自乗法により算出した。データは 3 つの試験管による結果の平均値を採用した。

$$\mu = \ln (N_t / N_0) / \Delta t \quad \dots\dots\dots (2)$$

ここで、

N_0 : 対数増殖初期の細胞数密度 (cells ml⁻¹)

N_t : 対数増殖終期の細胞数密度 (cells ml⁻¹)

Δt : 対数増殖の期間 (d)

である。

増殖速度 (μ) と光強度 (I) の関係を知るために、直角双曲線モデル (Lederman and Tett 1981) を改変した (3) 式 (山本ほか 1995, 山本・樽谷 1997) に非線形最小自乗法で近似して、各パラメータ (μ_m , K_s , I_0) を求めた。

$$\mu = \mu_m \times (I - I_0) / ((K_s - I_0) + (I - I_0)) \quad \dots\dots\dots (3)$$

ここで、

μ : 増殖速度 (divisions d⁻¹)

I: 光強度 ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

I_0 : 光強度の閾値; 増殖速度がゼロとなる時の光強度 ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

μ_m : 最大増殖速度 (divisions d⁻¹)

K_s : $\mu_m / 2$ を与える光強度 ($\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$)

2-2-2-6 現場の水中光の観測

現場における水中光の経時変化を知るために、水中光量子計 (Li-cor 社 LI-192SA) を用いて、1996 年 4 月から 1998 年 7 月まで、原則として毎月 1 回、八雲定点 (Fig. 3) における光強度の観測を行った。天候によって海面直上に

達する光強度が変化するため、船上で海面直上の光強度を同時に測定した。海面下 1, 5, 10, 20, 30 m 深の光強度は、海面直上の光強度に対する各深度における相対強度（ $=100 \times \text{水中光強度} / \text{海面直上光強度}$ ）として計算した。

2-2-3 結果

2-2-3-1 増殖に及ぼす水温と光強度の影響

それぞれの培養温度において異なる光強度条件下で培養して得られた *A. tamarense* の細胞数密度の変化を、1 回目の試験については Fig. 14 に、2 回目の試験については Fig. 15 に示した。弱光条件下では、培養温度が 5°C 以上の場合には光強度が強くなるにつれて増殖速度は大きくなる傾向があった (Fig. 14 B-E)。温度 3°C のときには光強度と増殖速度の関係は明確ではなかったが、光強度 $13 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の時にはゆるやかに増加した (Fig. 14 A)。強い光強度を含む条件での試験では、1 回目の培養結果を踏まえて、対数増殖期の増殖速度が安定したところで試験を終了したため、10°C 以上の温度設定の試験では、培養期間は 10 日までとした (Fig. 15 C-E)。3°C と 5°C では光強度に関わらず、培養開始から 5 日程度の誘導期ののち対数増殖期となった (Fig. 15 A-B)。

温度 10, 15, 18°C では弱光条件で 4 日程度の誘導期があったが、 $30 \sim 50 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の強い光条件では培養開始 1 日目から対数増殖期となった (Fig. 15 C-E)。10~18°C における強い光強度条件では増殖速度の減少はみられず、約 $600 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で強光阻害がないことがわかった。

これらの細胞数変化から得られた各温度における増殖速度 (μ) と光強度 (I) との関係を Fig. 16 に示した。両者の関係は直角双曲線モデルの改変式により、それぞれ以下の (4) ~ (8) の式で示すことができた。

$$3^\circ\text{C}: \mu = 0.19 (I - 3.51) / (I + 6.22) \quad (r^2 = 0.92) \quad \dots \quad (4)$$

$$5^\circ\text{C}: \mu = 0.26 (I - 2.65) / (I + 15.86) \quad (r^2 = 0.92) \quad \dots \quad (5)$$

$$10^\circ\text{C}: \mu = 0.47 (I - 3.85) / (I + 31.65) \quad (r^2 = 0.97) \quad \dots \quad (6)$$

$$15^\circ\text{C}: \mu = 0.48 (I - 3.90) / (I + 24.97) \quad (r^2 = 0.94) \quad \dots \quad (7)$$

$$18^\circ\text{C}: \mu = 0.47 (I - 4.46) / (I + 26.49) \quad (r^2 = 0.91) \quad \dots \quad (8)$$

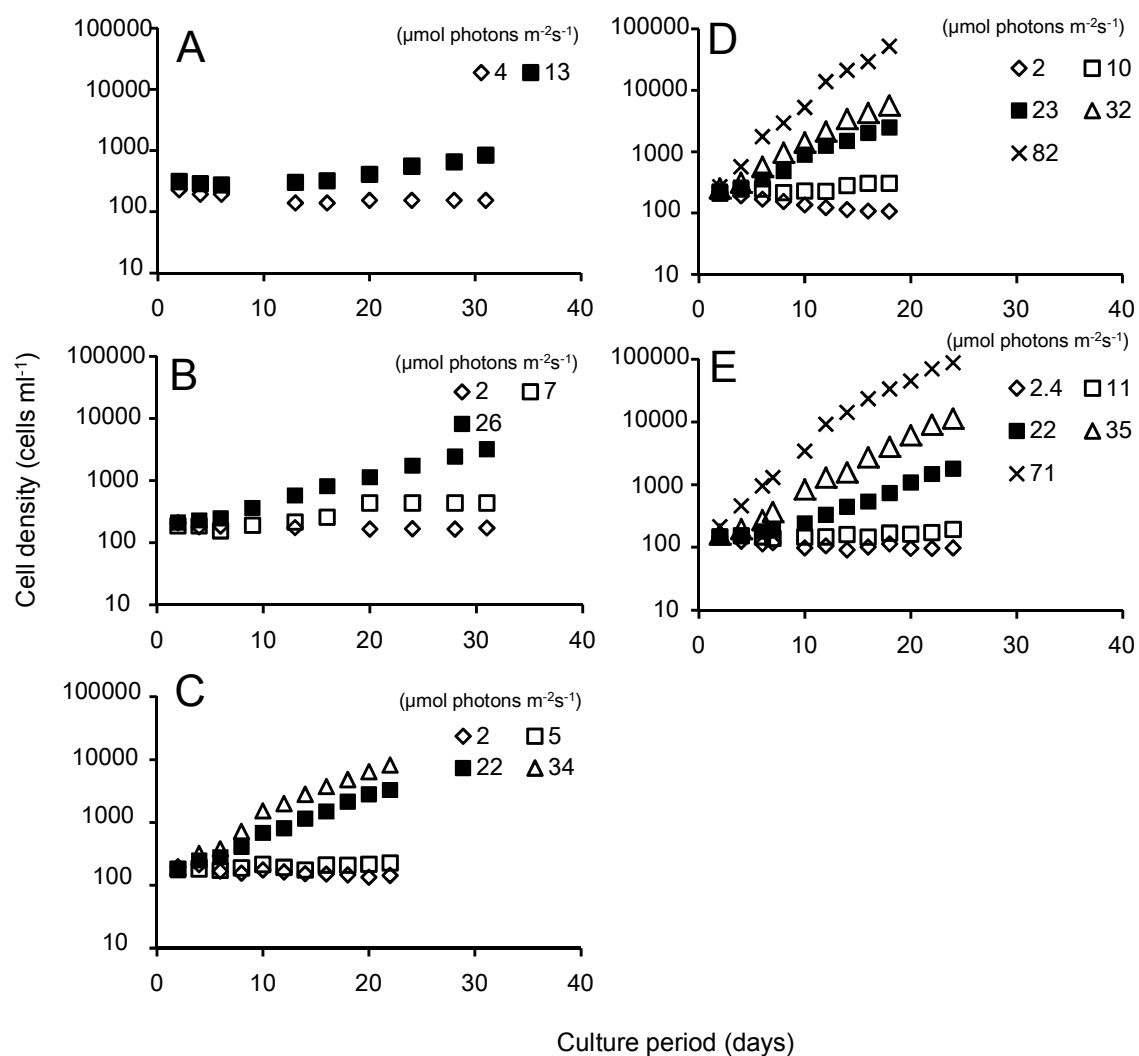


Fig. 14. Growth in cell density of *A. tamarensis* at different temperature under low light intensities. Temperature conditions were A: 3°C, B: 5°C, C: 10°C, D: 15°C, E: 18°C.

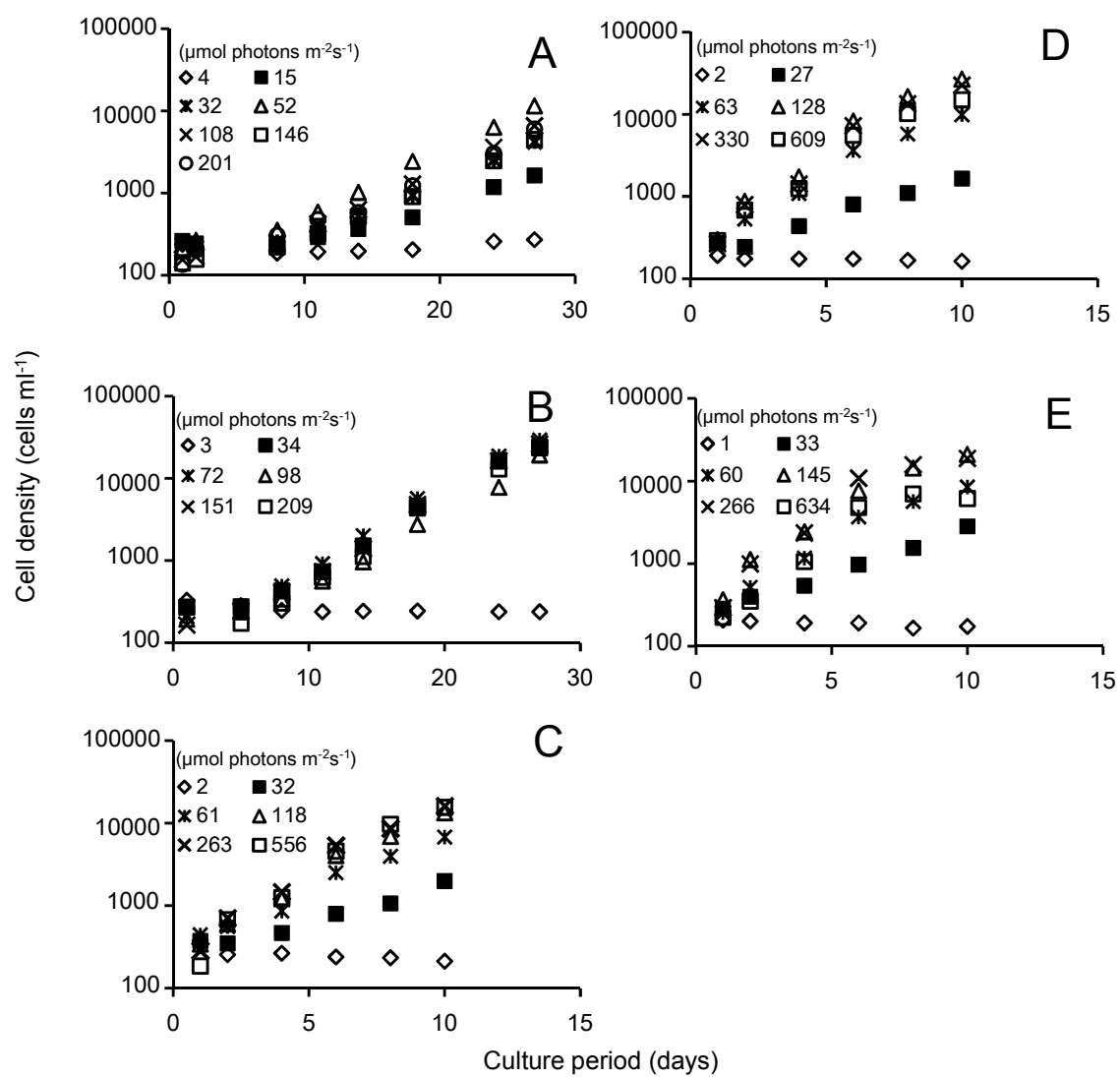


Fig. 15. Growth in cell density of *A. tamarensis* at different temperature under low-high light intensities. Temperature conditions were A: 3°C, B: 5°C, C: 10°C, D: 15°C, E: 18°C.

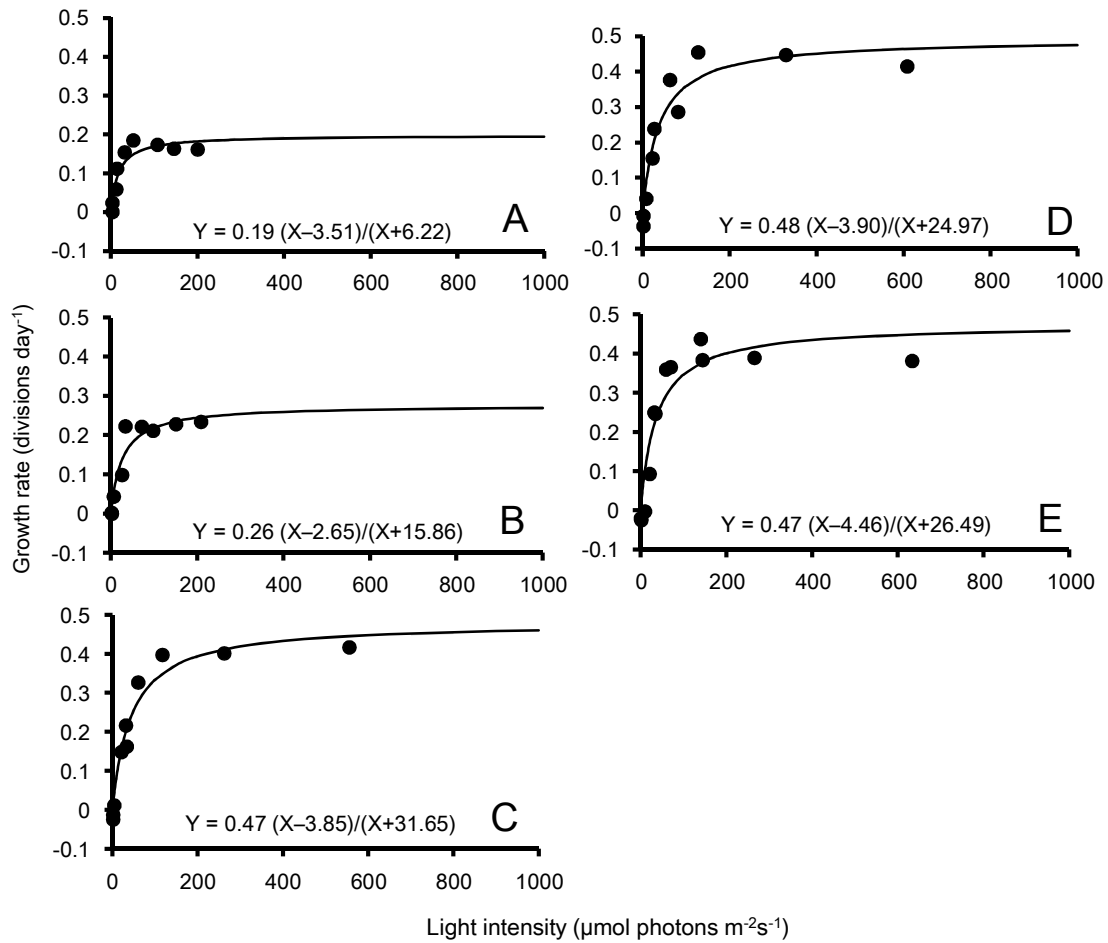


Fig. 16. Correlation between light intensities and growth rates of *A. tamarensis* at various temperatures. The formulas in each panel indicate approximation modified rectangular hyperbola model. All correlations were positively significant ($r > 0.95$). Temperatures of A: 3°C, B: 5°C, C: 10°C, D: 15°C, E: 18°C.

上記の式から得られた最大増殖速度，反飽和定数，及び光強度の閾値についての各パラメーター値と水温との関係を Fig. 17 に示した．各温度における最大増殖速度 (μ_m) は $0.186 \sim 0.479 \text{ divisions d}^{-1}$ の範囲にあり，温度 15°C で最大となったが，10～18°C の間ではほぼ同じ値であった．最大増殖速度の 1/2 を与える光強度 (K_s) は $13.3 \sim 39.3 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲にあり，10°C で最大となった．10°C 以上では値が小さくなった．各温度における光強度の閾値 (I_0) は $2.7 \sim 4.5 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲にあり，いずれの温度でも非常に弱い光強度であった．

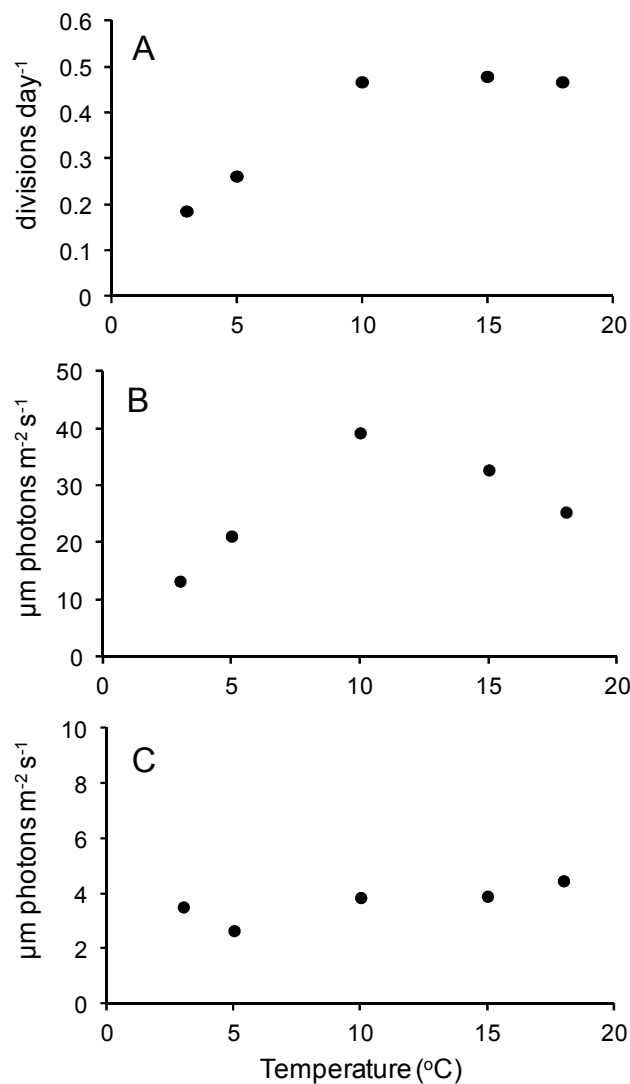


Fig. 17. Correlations between temperature and maximum growth rates (μ_m : A), half saturation constants (K_s : B), threshold values of irradiance (I_0 : C) of *A. tamarensis* isolated from Funka Bay obtained with the culture experiments under different light intensities at different temperatures.

2-2-3-2 増殖に及ぼす日長の影響

それぞれの培養温度における増殖速度と日長との関係を Fig.18 A に示した. いずれの温度においても日長が長くなると増殖速度は直線的に増加する傾向が認められた. 日長の増加に対する増殖速度の変化は 10°C のとき最も大きく, 10°C 以上では, 日長の相違に対する増殖速度の変化は小さくなった. 10°C では日長 8 時間と 16 時間での増殖速度は約 1.5 倍異なった. 日長 14 時間における各水温での増殖速度を 1 とした場合の比増殖速度と, 日長との関係を Fig. 18 B に示した. 比増殖速度でみると, 5°C のときに最も変化が大きく, 10 時間と

16 時間における増殖速度は約 6 倍異なった。比増殖速度の変化が大きいのは低温域での増殖速度が極めて低いためである。

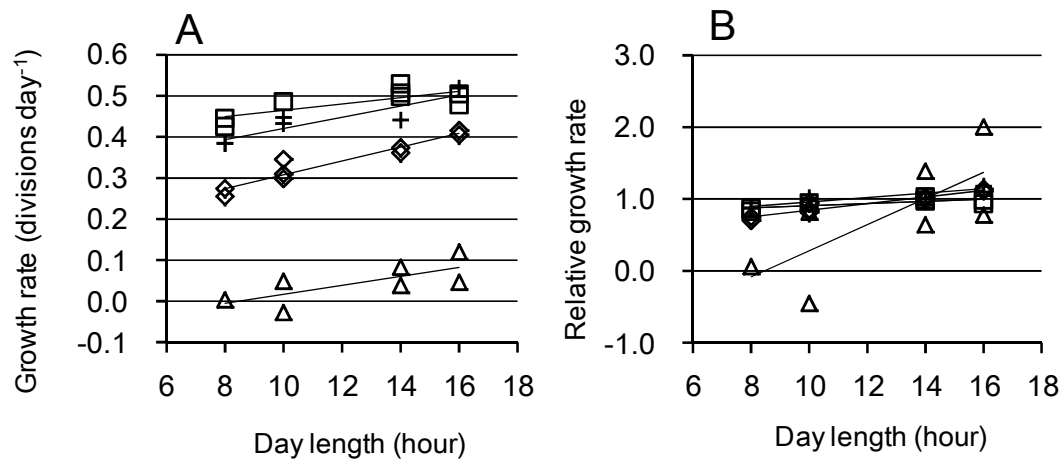


Fig. 18. Correlation between day length (DL) and growth rates (A: GR) and relative growth rate (B: RG) of *A. tamarensis* under different temperature conditions. Relative growth rates were calculated as follows: $RG_{DL} = GR_{DL} / GR_{14}$. Regression lines were significant ($p < 0.01$). Δ 5°C, $\Diamond$ 10°C, + 15°C, $\square$ 18°C.

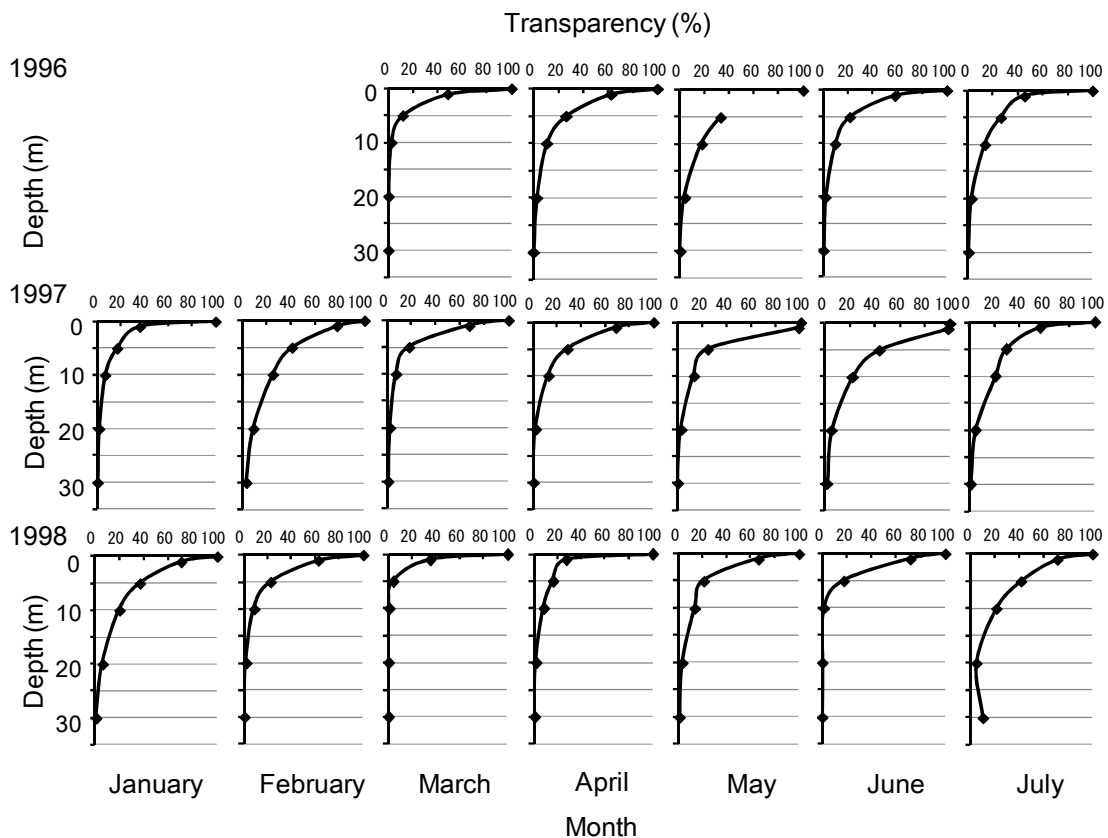


Fig. 19. Correlation between transparency (%) and depth (m) at Yakumo station from January to July in 1996-1998. No observation was carried out in January and February in 1996.

2-2-3-3 現場の水中光の経時変化

八雲定点における 1996 年から 1998 年までの 1～7 月に観測した海面直上光の透過率を Fig. 19 に示した. 調査月や調査日の条件によって海中の懸濁物の状況が異なるため, 光の減衰傾向は異なったが, 月別の光条件の特徴を比較するため, 3 年間の平均値 (1, 2 月は 2 年間) を Table 4 に示した. 期間を通して, 海面から入射した光は水面下 1 m で 50.2～76.0 %に減衰し, 水深 10 m では入射光の約 10 %程度 (3.4～18.7 %) になった. 光の減衰が大きかったのは 3 月であり, 水深 5 m で入射光の 10 %程度まで減衰した. これに対して 2 月と 7 月には光の減衰が小さく, 水深 30 m でも入射光の 1 %以上が到達した.

Table 4. Relative radiation decrease (%) at different depths (m) from sea surface at Yakumo station from January to July. Average of observation data from 1996 to 1998 were shown.

Depth (m)	January*	February*	March	April	May	June	July
0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
1	53.2	69.8	50.2	52.8	54.8	76.0	57.7
5	26.7	31.3	11.1	23.6	26.0	27.5	32.5
10	13.3	16.6	3.4	10.5	14.7	11.0	18.7
20	3.9	5.2	0.8	2.2	3.3	2.4	4.3
30	0.6	1.6	0.2	0.3	0.4	0.6	4.1

*The average data of years in 1997 and 1998

2-2-4 考察

2-2-4-1 水温と増殖速度

室内実験の結果から, 噴火湾産の *A. tamarense* は 3°C から 18°C までの広い温度範囲で増殖できることが示された. 実験では 10～18°C のとき最大増殖速度 (μ_m) は 0.4 divisions day⁻¹ を越え, 10°C 以上ではほとんど値に差は認められなかった. 一方, 3°C と 5°C の低温条件下でも増殖が確認され, 最大増殖速度はそれぞれ, 10°C の場合の 40, 55 %に相当した. これまで噴火湾で行われた調査によれば, 本種は水温 10～13°C の層に高密度に分布するが (西浜ほか 1980), 5°C 前後の低水温のときにも高密度に出現する場合のあることが報告されている (西浜・佐藤 1981). 3～5°C の低水温下でも増殖できるという本研究の結果は第 1 節で述べた初期個体群形成期の水温条件が 2～6°C であることを裏付けるものである. 他方, 現場観察では *A. tamarense* の増殖至適水温の上限が 10～16°C である (西浜ほか 1980, 嶋田 2000, 第 2 章第 1 節) が, 本実験では 18°C まで増殖速度が大きいことが明らかとなった. このため, 現場におけるブルーム形成時の水温上限が 16°C にとどまっている理由は温度に対する本種の増殖特性からは説明できない. *A. tamarense* と *A. catenella* では, 有性

生殖はブルームにおける個体群規模が最大となる前に誘導されることが観察されており (Anderson et al. 1983, Takeuchi et al. 1995), このことから, ブルーム中に発生する有性生殖による大規模なシスト形成がブルーム消失の重要な要因であると指摘されている (Anderson 1998). 広島湾における *A. tamarense* の個体群動態においては, 海底直上水温が 14°C を超えると栄養細胞数が急激に減少することが観察され (Itakura and Yamaguchi 2001), 水柱内の水温との対応では, 細胞数の急減は 14~17°C の範囲内で発生している (Itakura et al. 2002). 他方, Nagai et al. (2004) は, 培養環境下において広島湾産 *A. tamarense* のシスト形成の至適水温が 14°C 付近であることを示し, 広島湾において観察されている現場水温が 15°C を超えるとブルームが消失する現象は活発なシスト形成によることを示唆している. 噴火湾においても, ブルームピークの形成適水温の 14°C 付近を超えるとシスト形成が活発となり, その結果としてブルーム消失をもたらしていると考えられる.

本種の最大増殖速度をもたらす温度条件は採集場所による株の違いで異なると報じられている. 北米東海岸産株は 0~24°C の範囲で増殖でき, 15~22°C が最大増殖速度をもたらす温度である (Yentsch et al. 1975, Watras et al. 1982). 大船渡湾産株は 6.5~17.5°C の範囲で増殖可能であり, 最大増殖速度を与える温度は 17.5°C であった (石丸 1985). 三河湾産の株では増殖可能範囲は 5~25°C であり, 最大増殖速度は温度 15°C で観察された (山本ほか 1995). 広島湾株の場合は 5~25°C の範囲で増殖でき, 15~20°C が最大増殖速度をもたらす温度であったという (山本・樽谷 1997). さらに, 台湾産株の最大増殖速度をもたらす温度は 28°C (Su et al. 1993) という報告もあり, 本種の増殖の最適温度条件はそれぞれの株の分布する地理的な水温環境に適応していると思われる. 噴火湾産株は 3~5°C という低水温条件下でも増殖でき, 10°C という比較的低い水温帯から最適増殖速度に達することができることから, 寒冷的環境に適応した増殖特性を持っているといえる.

2-2-4-2 光条件と増殖速度

本種の増殖に必要な光強度 (閾値: I_0) についてはアメリカ北東部のボストン近郊 Gloucester で分離された株では 35 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Langdon 1987), 三河湾産株では 45 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (山本ほか 1995), 広島湾産株では 76 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (山本・樽谷 1997) という光強度の閾値 (I_0) が報告されており, 本種の増殖には比較的高い光強度が必要であることが指摘されている (山本・樽谷 1997). しかし, 本研究の光-増殖曲線から求めたそれぞれの培養温度における噴火湾産株の I_0 は 2.7~4.5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の範囲にあり,

これまでの報告に比べて低い光強度条件で増殖し、低光強度環境に適応した増殖特性を持っているといえる。

室蘭における午前 11 時から午後 1 時までの全天日射量の月平均値 (1993～1997) は、おおよそ 2 月の $1.5 \text{ MJ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ から 3 月の $2 \text{ MJ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ に増加し、その後 7 月までは $2 \text{ MJ m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ 前後で推移する (気象庁 1996, 1997, 1998)。光条件が大きく好転する 2 月から 3 月の期間は *A. tamarense* の初期個体群の形成期に相当する (Table 1)。光条件の好転は栄養細胞の増殖チャンスの増大に貢献するので、3 月に初期個体群の形成頻度が高い理由の一つに光条件の好転を挙げることができる。

噴火湾において *A. tamarense* が高密度で出現した 1978 年から 1981 年には、本種は 2～3 月に表層 (0～10 m 層) で初期個体群を形成したのち、6～7 月には表層から消失して中層 (20～30 m 層) で細胞数密度の高い個体群を形成するという鉛直分布の経時変化パターンを示した (西浜ほか 1979, 1980, Uchida et al. 1980, 西浜・佐藤 1981)。第 1 節で示したとおり、1981 年以降の大規模ブルーム年のうち、6 月に密度躍層が発達した 1994 年に *A. tamarense* は 4～5 月に表層 (0～10 m 層) を中心に分布し、6 月には中層 (10～30 m 層) へ分布の中心を移動させており (Fig. 11)、これら知見とよく一致する。全天日射量 (気象庁 1996, 1997, 1998) を光強度に換算すると (Thimijan and Heins 1983), *A. tamarense* の個体群が表層に分布中心のある 2 月から高密度層が中層に形成される 6～7 月には海面直上における光強度は $938 \sim 1,250 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ の間を変化することになる。噴火湾産 *A. tamarense* の光強度の閾値 (I_0) 約 $3 \sim 4 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ は海面直上の光強度の約 0.3～0.4 % に相当する。この値と八雲沖定点で実測した光の透過率から見積もった本種の増殖可能な限界水深は、3, 4 月を除いて 30 m よりも深い水深となり (Table 4)、水深 30 m 付近は増殖可能な深度となる。これらの見積もりは日中最も光が強くなる時間帯の月平均値を基準に計算されたため、実際にはある程度過大評価している可能性がある。しかし、6～7 月に *A. tamarense* が高密度に分布する噴火湾沿岸域の水深 20～30 m 層は十分増殖可能な光条件であると考えられる。また、水深 1～10 m 層での光強度は $38 \sim 620 \text{ } \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ と見積もられるので、密度躍層が発達した 6～7 月の表層は本種の増殖にとって好適な環境と言える。このため、6～7 月に本種が表層から消失するのは光条件からの説明はできない。この現象も温度条件と同様、本種の生活史などの生物学的要因を考慮する必要がある。

日長変化に対する増殖速度の差は水温 10°C のとき大きく、日長が 14 時間から 16 時間となった場合に増殖速度は約 1.1 倍に大きくなった (Fig. 18 A)。

第 1 節で示したとおり、噴火湾における平均的なブルームのピーク形成は 6 月である (Table 1) . 札幌の日長は 4 月下旬に約 14 時間、6 月下旬に約 15 時間 20 分である (国立天文台 1996) . これらのことから、本種の増殖速度は日長の影響で 4 月に比べて 6 月には約 1.1 倍早くなることになる. 本種の高密度群の形成が 6 月を中心にみられることはこのこととよく一致し、噴火湾における本種の高密度群の形成は長日による増殖速度の上昇によっても支えられていると考えられる. 他方、Fig. 18 B に示した比増殖速度についてみると、水温 5°C の条件では、増殖速度が極めて遅いために日長 16 時間の増殖速度は 10 時間のときの約 6 倍となり、日長変化に対する増殖速度の変化は大きかった. 噴火湾西部沿岸域において平均水温が 5°C となるのは 4~5 月であり、年による違いも小さい (Fig. 6) . この時期の札幌の日長は約 13 時間から 15 時間まで変化する (国立天文台 1996) . このため、現場で想定される増殖速度への日長の影響は約 1.4 倍となり、初期個体群からブルームの形成、維持への日長の影響は無視できない.

第 3 節 噴火湾産 *A. tamarense* シストの発芽特性

2-3-1 緒言

A. tamarense は終生をプランクトンとして過ごすのではなく、生活史の中に底生性のシスト期とプランクトン性の栄養細胞期を持つ、一時性プランクトン (meroplankton) である (Fig. 2) . 噴火湾では、1 年の約 5 ヶ月をプランクトンとして水柱で過ごし、残りの 7 ヶ月をシストとして海底で過ごす (Table 1) . シストを形成する *Alexandrium* 属の種のブルーム形成においては、堆積物中のシストの発芽が水柱への栄養細胞の接種機能を果たすと考えられている

(Anderson 1998) . 噴火湾における *A. tamarense* の生態に関する研究は麻痺性貝毒の発生時期の予知予察を目的とするため、これまで主に栄養細胞個体群に注目した研究が行われてきた. その結果、本種の増殖に適した環境条件や分布パターン等に関する知見が蓄積されてきた (西浜ほか 1979, 1980, 西浜・佐藤 1981, Shimada et al. 1996) . また、シードについての知見を得るため、シスト密度調査が行われている (福代 1980, パスコ (株) 1991, 金子ほか 1993, 1994, 1995, Shimada and Miyazono 2005) . しかしながら、本種のブルーム形成とシストの発芽生態との関係を繋ぐための研究はない. 植物プランクトンのシストの休眠や発芽のサイクルは、外的環境と生物自身の休眠状態を反映して進む (今井 1990, 板倉 2007) . すなわち、新たに形成されたシストは内因性休眠の状態にあり、そのままの状態では発芽に好適な環境条件下におかれても発芽はできない. 発芽可能な状態になる (=成熟する) には、ある環境である一定の時間が必要と

され、その長さ（内因性休眠期間）は種によって異なると同時に生息する環境条件（特に水温）によっても変化する（e.g. Wall and Dale 1968, Dale et al. 1978, Anderson 1980, Kim and Han 2000）．内因性休眠期を終えた成熟シストは環境条件が好適であれば発芽するが、環境条件が不適（たとえば貧酸素）であれば発芽は抑制され、この状態を外因性休眠と称する．*A. tamarense* については内因性休眠と外因性休眠の存在が知られている（Anderson 1998）．温度は発芽にとって基本的な刺激要因であり、季節的な水温上昇や下降の中で生じる発芽適温域（temperature window）内で発芽活性が高くなる（Anderson and Morel 1979, Anderson 1980, Itakura and Yamaguchi 2001）．このように、*A. tamarense* シストの発芽は内因的休眠と外因的休眠および temperature window によってコントロールされていると考えられる．噴火湾ではここ数年、本種のブルームが小規模化しており、麻痺性貝毒の発生規模も縮小の傾向にある．こうしたブルームの動態は、栄養細胞の生理特性や栄養細胞の動態だけでは十分説明できないので、シストの挙動も含めた動態研究が必要である（Anderson and Morel 1979, Anderson and Keafer 1985, Ishikawa and Taniguchi 1996, 1997, Perez et al. 1998, Kim and Han 2000, Kremp and Anderson 2000, Itakura and Yamaguchi 2001, 2005）．そこで本節においては、噴火湾沿岸の海底堆積物中における本種のシスト密度および発芽活性の季節変化を調査し、シストの発芽特性を明らかにすることを目的とした．

2-3-2 材料と方法

2-3-2-1 海底堆積物の採集と処理

1996 年 4 月から 1997 年 3 月まで、噴火湾西部に位置する八雲沖 3 マイルの地点（Fig. 3, 距岸 8 km, 水深 35 m）を定点として、毎月 1 回海底堆積物の採集を行った．採集には TFO 式採泥器（内径 1.5 cm, 離合社）を使用した．得られたコアは船上にて上下をゴム栓で止め、直立させたまま保冷剤により冷却しながら実験室に持ち帰った．実験室では、コアパイプの上澄み液を除去した後、押し出し棒により柱状堆積物を徐々に押しだし、表層から 3 cm 毎の 4 層に区分して 12 cm 深まで取り分けた．切り出した柱状試料はスチロール軟膏瓶に入れ、よく混合した後、シスト密度の計数および培養試験に用いた．

1997 年 7 月にはシストの鉛直分布をより詳細に知るため、得られた柱状試料を表層から 1 cm 毎の 15 層に区分し、シストの計数を実施した．

2-3-2-2 シスト密度の計数

シスト密度の計数には均質に混合した試料 0.3～0.5 g を使用した．蒸留水に

懸濁させた試料はナイロンメッシュを張った篩を用いて、100 μm 以上の粒子を除去し、10 μm 目合いの篩で受けた。つぎに超音波処理しながら蒸留水で洗い、目合いを抜ける粒子をできるだけ除去して、最終的に 10~100 μm の画分を 10 ml 試験管に集めた。これをグルタルアルデヒドによる固定およびメタノールによるクロロフィル除去を行った後、プリムリンによって染色したのち (Yamaguchi et al. 1995), 10 ml に定容し、落射蛍光顕微鏡下でカプセル状の形状を有する *A. tamarense* のシストと判別されるシストを計数した。計数には定容試料の 1/5 から 1/10 を使用した。空のシストについては計数から除外した。

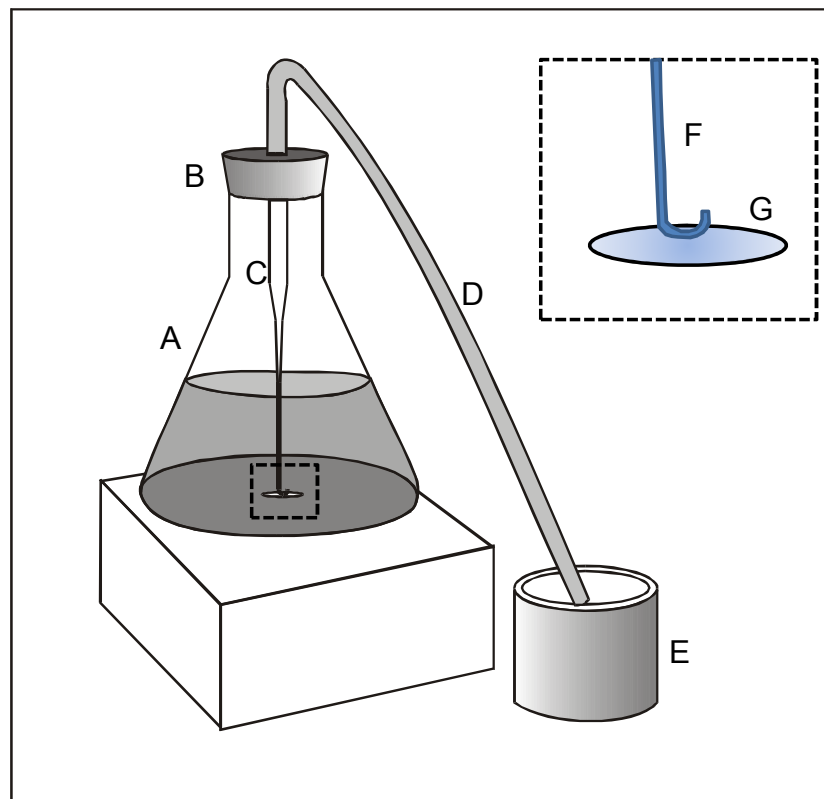


Fig. 20. Experimental vessel and sampling method of supernatant of the sediment culture. A: 300 ml conical flask, B: silicone rubber cap, C: siphon made from Pasteur pipette to collect supernatant of the culture, D: silicone tube, E: sieve with 10 μm opening nylon mesh to collect germinated cells in the supernatant, F: Pasteur pipette with tip of bended j-shape, G: circular cover glass attached for protecting from the suction of resuspended sediments.

2-3-2-3 シストの発芽活性の見積もり

本研究では、現場におけるシストの発芽活性を見積もるために、サンプル採集から発芽試験までにできるだけ人為的操作が加わらない、10 日間のバッチ培養による方法を採用した。発芽適水温を明らかにするために、培養温度を 1, 3, 5, 10, 15, 18°C の 6 段階に設定し、噴火湾で *A. tamarense* が出現する 1 月から 7 月

までの 7 カ月について発芽試験を行った。1 年を通じた発芽特性を知るため、発芽適水温および採集時期の海底直上水温を設定し、培養発芽実験を周年にわたって行った。培養試験はそれぞれの温度設定に対して 3 本立てで実験を行った。培養試験には 300 ml 容三角フラスコを使用した (Fig. 20)。あらかじめ、調査地点から採集してきた現場海水を GF/C ガラス繊維フィルターで濾過したものを用意し、培養温度に調温しておいた。このため、培養実験に使用した海水は現場海水である。採泥の当日、実験室に戻ったのち、濾過海水 150 ml を培養フラスコに加え、軟膏瓶で均質化した試料の一部 (0.3~0.5 g) を懸濁させ、直ちに培養を開始した。発芽細胞は海水中に泳ぎ出すので、泥を巻き上げないように上澄み液を採取し、その中の栄養細胞を計数することによって発芽細胞を毎日計数した。発芽細胞は下記の基準によって識別した。上澄み液は Fig. 19 に示したパスツールピペットを加工し、円形カバーガラスを貼り付けた J 字型サイフォンにより毎日回収し、培養フラスコには調温した濾過海水をその都度追加して培養を継続した。フラスコ中の海水に対する上澄み海水の回収率は毎回約 70 % であった。したがって 3 日で培養の 97 % が回収されることになる。発芽活性は 10 日間の培養の結果から求めたので、9, 10 日目に発芽した後、底泥付近に分布した栄養細胞は計数されなかった可能性がある。しかし、培養期間中の観察では、発芽後の栄養細胞は活発に遊泳しており、その多くは回収された上澄み液中に分布したと考えられる。10 日間の培養が終了したのち、直ちに培養フラスコ内の底泥を回収し、底泥に残ったシスト数を残存シストとして Yamaguchi et al. (1995) の方法で直接計数した。10 日間の培養期間中に発芽したシストの割合を発芽活性と定義し、(9) 式によって計算した。

$$\text{発芽活性 (\% 10-days}^{-1}\text{)} = 100 \times \text{発芽細胞数} / (\text{発芽細胞数} + \text{残存シスト数}) \cdots \cdots (9)$$

噴火湾では、1988 年に *A. catenella* が出現したことがある (林 1989, 1990, Noguchi et al. 1990) が、1978 年以降の麻痺性貝毒発生のほとんどが *A. tamarense* の出現によるものであること (北海道立水産試験場 2000)、および予備実験で発芽した栄養細胞を同定したところ、全てが *A. tamarense* であったことから、本研究では *A. tamarense* 型の形状を示すシストを *A. tamarense* のシストとして扱った。

2-3-2-4 発芽細胞の種同定

シストから発芽し泳ぎ出した細胞は、分裂により細胞数を増加させるため、

10 日間の連続したバッチ培養では発芽細胞とその後に分裂した細胞とを区別する必要がある。*A. tamarense* の発芽直後の細胞は通常の栄養細胞に比べてサイズが大きく、細胞色の褐色も濃い。基本的にはこうした細胞を発芽細胞として計数対象とした。しかし、ここで使用したバッチ培養法では 3 日で培養液のほぼ全量が交換されるので、その間の細胞分裂によるサイズや色が変わったものについては計数から除外される可能性が高い。発芽直前のシストは red body といわれる赤いスポットを持つため、発芽間近のシストの指標となる (Anderson and Keafer 1985, Itakura and Yamaguchi 2001)。シストの red body は発芽後の細胞に受け継がれ、分裂したのちも 1 個の娘細胞に引き継がれることが知られている。予備試験により、red body をもつシスト 20 個から発芽した細胞 18 個に red body が受け継がれ、48 時間後には分裂中の連鎖した後部の娘細胞に red body が受け継がれていることを確認した。噴火湾産の *A. tamarense* は最大 1 日に 0.48 回分裂するので (第 2 章第 2 節)、red body の存在によって発芽細胞を発芽後 3 日は十分追跡できる。そこで、発芽直後の大型細胞および red body を持つ栄養細胞を発芽細胞と定めた。

2-3-3 結果

2-3-3-1 シスト密度の季節変化

堆積物コアサンプルを 3 cm 毎に 4 層に区分したそれぞれの層におけるシスト密度の季節変化を Fig. 21 に示した。シスト密度は 0~3 cm 層では 186~365 cysts g⁻¹ wet sediment (g⁻¹ ws), 3~6 cm 層では 406~1,157 cysts g⁻¹ ws, 6~9 cm 層では 211~736 cysts g⁻¹ ws, 9~12 cm 層では 90~377 cysts g⁻¹ ws の間にあった。各層における各月のシスト密度の値の範囲は、最大でそれぞれ 2.0, 2.9, 3.5, 4.2 倍の違いがあったものの、季節性は認められなかった。シスト密度の違いには、コアサンプル毎の不均一さの影響の可能性も含まれる。調査地点の底質は駒ヶ岳や有珠山の噴火に由来する軽石等を含む泥場であり、表面の 0~6 cm 層に比べて、6~12 cm 層に軽石が多く含まれた。ときおり見られた大きな密度の変化は軽石の混入による底泥粒子の不均一さの一因であると考えられる。

2-3-3-2 シスト密度の堆積物中の鉛直分布

1997 年 7 月に行ったシスト密度の詳しい鉛直分布をみると (Fig. 22 left), シスト密度は鉛直的に大きく変化し、4~7 cm 層と 12~14 cm 層に密度極大がみられた。4~7 cm 層のシスト密度が最も高く、0~2 cm 層の約 3 倍であった。これらの結果は周年調査の平均値でみたシストの鉛直分布 (Fig. 22 right) とよく一致した。周年調査ではコアサンプルの採取深度が浅いため、4~7 cm 層の極

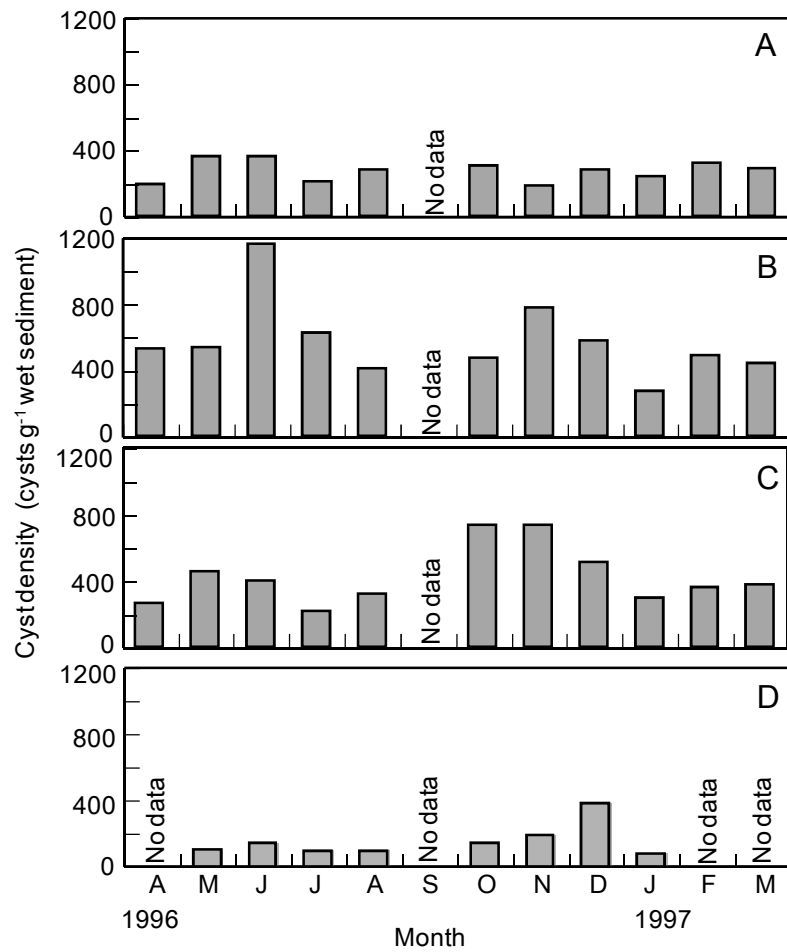


Fig. 21. Seasonal changes of *A. tamarensis* cyst densities in four depth layers of sediment samples collected at Yakumo station. A: 0-3 cm, B: 3-6 cm, C: 6-9 cm, D: 9-12 cm layers.

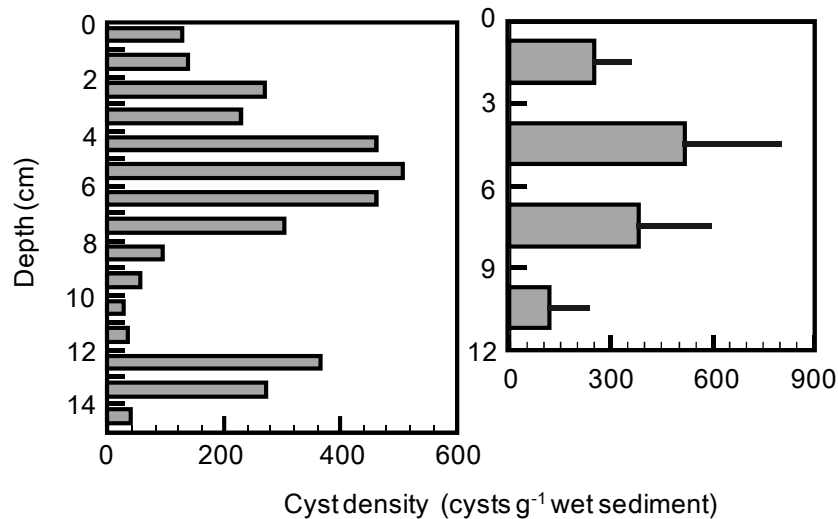


Fig. 22. Vertical profiles of *A. tamarensis* cyst density at Yakumo station. Left: the cyst density at every 1 cm depth layer from 0 to 15 cm sediment core collected in July, 1997. Right: the average cyst density at every 3 cm depth layer from 0 to 12 cm sediment core collected monthly from April, 1996 to March, 1997. Horizontal bars indicate the standard deviation (n = 3).

大しか検出されなかったが、噴火湾の西海域沿岸部では堆積物表層以外に *A. tamarense* シスト密度の極大が複数存在している可能性がある。

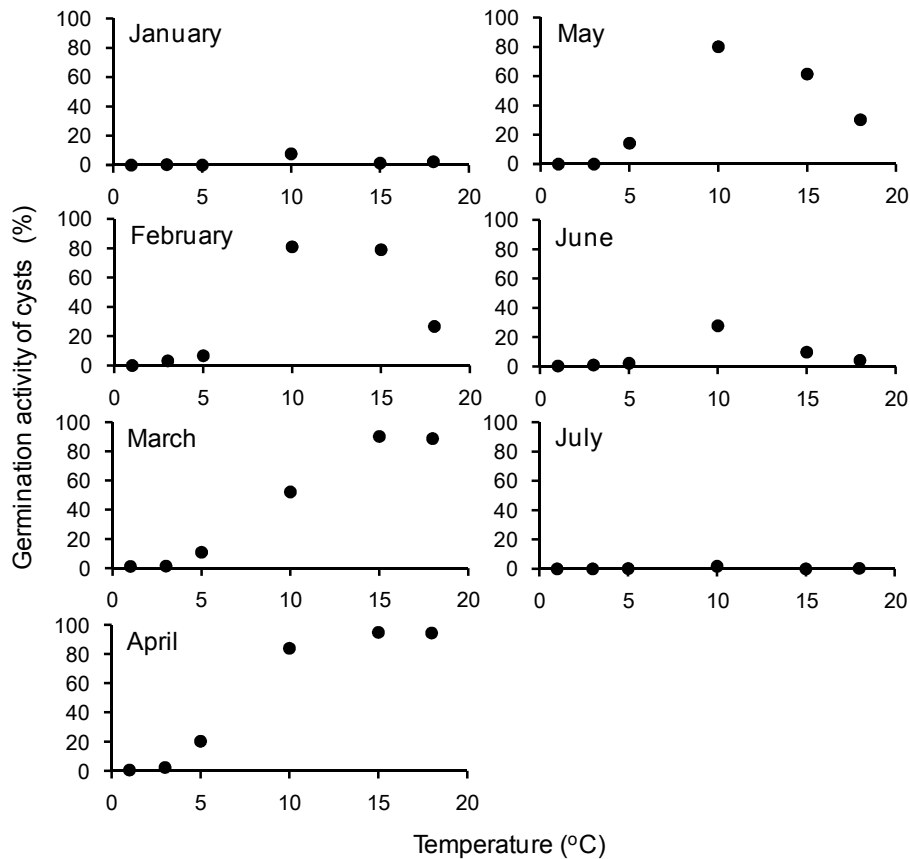


Fig. 23. Effects of temperature (°C) on germination activity of *A. tamarense* cysts in surface sediment (0-3 cm depth) collected from April to July in 1996 and from January to March in 1997 at Yakumo station. Incubation was made for 10 days under light cycle of 14-h light: 10-h dark.

2-3-3-3 発芽活性と温度の関係

1月から7月まで、6段階の温度設定で行った月別発芽試験の結果を Fig. 23 に示した。発芽率は5°C以下の温度で低くなり、その傾向は各月とも共通していた。温度が10°C以上のときの温度に対する発芽応答は月によって大きく異なった。3月と4月には10°Cと比べて15、18°Cにおける発芽率は高かったが、その他の月では、10°Cに比べて15、18°Cの発芽率は低下した。いずれの月も他の温度条件とは異なり10°Cでは相対的に高い発芽率が認められたため、10°Cを発芽適水温とみなし以下の実験に適用した。各水温条件間の発芽率を直線的に内挿することで発芽率が50 % 10-days⁻¹を越えた温度範囲を temperature window（発芽適水温域）とみなすならば、噴火湾産 *A. tamarense* シストにおける発芽の temperature window の下限は約7°C、上限は18°C（18°C以上の可能性

あり) と判断された。

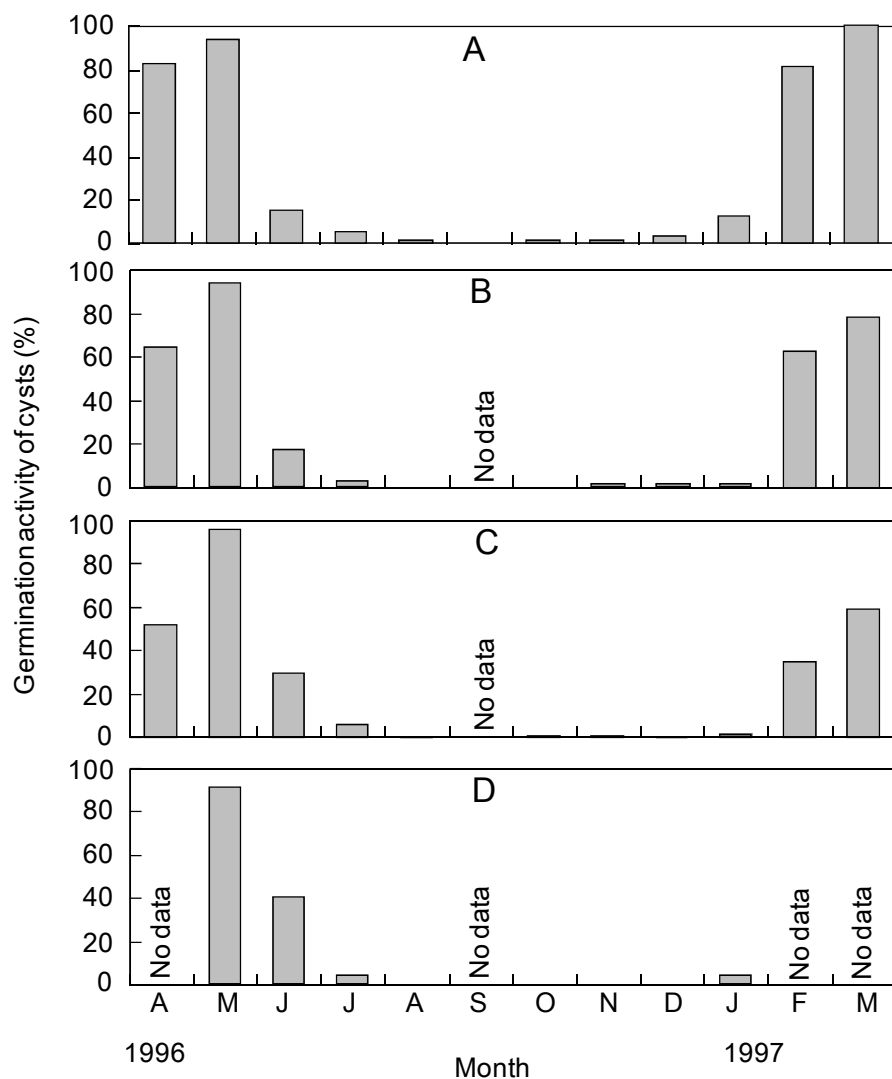


Fig. 24. Seasonal changes of germination activity of *A. tamarensis* cysts after 10 days batch culture incubation at 10°C, light cycle of 14-h light: 10-h dark. A: 0-3 cm, B: 3-6 cm, C: 6-9 cm, D: 9-12 cm layers of sediments.

2-3-3-4 *A. tamarensis* シストにおける発芽活性の季節変化

発芽適水温 (10°C) におけるシストの発芽活性の季節変化を、シストの分布層別に示した (Fig. 24)。分布層に関わらずシストの発芽活性には顕著な季節性が認められた。シストの発芽は1月から検出されるようになり、2月から5月まで発芽活性 (10 日間の発芽率) は約 80 % 10-days⁻¹ 以上と高かった。6月と7月には発芽活性は低下し、8月から12月まで発芽活性は 0~1.2 % 10-days⁻¹ と低かった。このことから、噴火湾におけるシストの生理的に発芽活性の高い時期は2~5月の4か月間であり、6月と7月は発芽可能な時期と判断された。

現場の海底直上水温の推移と、現場水温におけるシストの発芽活性の季節変化をシストの堆積物中の分布層別に示した (Fig. 25)．海底直上水温は 10 月の 11.4°C と 3 月の 2.5°C の間を変化した．深度 0～3 cm 層のシストの発芽活性には適水温下のシストと同様に、顕著な季節性が認められたが、発芽率は最大 4.3 % 10-days⁻¹ と適水温下に比べて低かった．一方、3 cm 以深のシストは発芽率が周年低く、0～1 % 10-days⁻¹ の間であった．

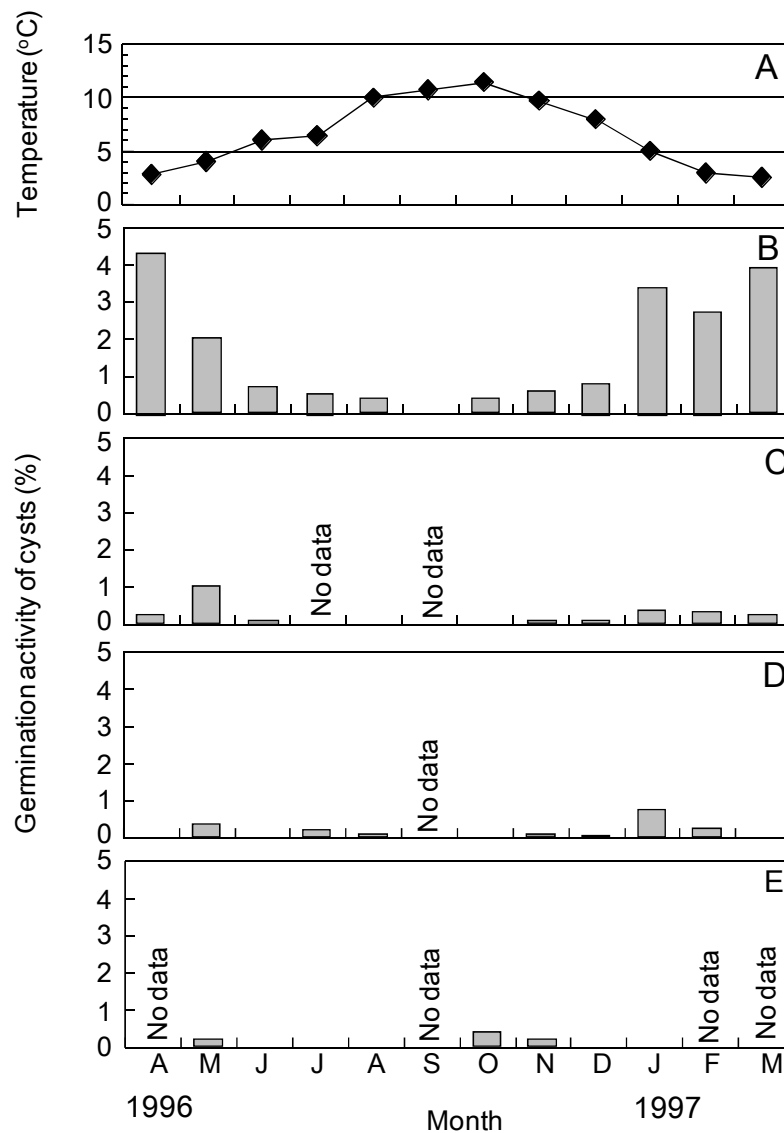


Fig. 25. Changes in bottom water temperature at Yakumo station from April, 1996 to March, 1997 (A) and seasonal changes in germination activity of *A. tamarensis* cysts after 10 days batch culture incubation under *in situ* bottom temperature, light cycle of 14-h light: 10-h dark. B: 0-3 cm, C: 3-6 cm, D: 6-9 cm, E: 9-12 cm layers of sediments.

2-3-4 考察

2-3-4-1 シスト密度の季節変化

調査定点における堆積物表層のシスト密度には、顕著な季節変化が認められなかった (Fig. 21 A). 和歌山県の田辺湾では堆積物表層 (厚さ 1 cm) 中の *Alexandrium catenella* のシスト群において、発芽によるシスト密度の減少と水柱の栄養細胞のシスト形成による堆積物底泥中のシスト密度の増加が観察されており、顕著なシストの季節的増減は、最大密度が $10^6 \text{ cells L}^{-1}$ に達する栄養細胞密度の大きな消長と関係していることが指摘されている (竹内ほか 1990). *A. tamarense* においても同様に、栄養細胞のブルーム形成とブルーム消失に伴うシスト形成による堆積物表面のシスト密度の増加が報告されている (Perez et al. 1998, Kim et al. 2002). これらの報告における *A. tamarense* ブルームの最大細胞数密度は $10^4 \sim 10^5 \text{ cells L}^{-1}$ であった. 他方、1996 年の八雲定点における *A. tamarense* の最大栄養細胞数は 230 cells L^{-1} とはるかに低密度であり、小規模ブルーム年と見做された (Table 3). また、現場水温における 4, 5 月のシストの発芽活性は $2 \sim 4 \% 10\text{-days}^{-1}$ と非常に低い値であった (Fig. 25). これらのことから、噴火湾の堆積物表層におけるシスト密度に顕著な季節変化が認められなかった理由の一つは、栄養細胞の形成を伴う新・旧シストの交替の規模が小さかったためと考えられる. また、堆積物中のシストは海底表面に沈降したのち、生物攪乱、堆積物の移動や混合などの外因的要因にその後の分布は影響される (Keafer et al. 1992). そのため、水深が比較的浅い八雲定点のシスト密度は、こうした外的要因に影響を受けていると考えられる.

2-3-4-2 シストの堆積物中の鉛直分布

堆積物中のシストの鉛直分布は、シストの堆積時期、堆積物の採集時期、シストの発芽や減耗、底生生物による堆積物の生物攪乱など、多くの要因が関与すると考えられるが (Anderson et al. 1982), 過去の *A. tamarense* 個体群の繁栄や衰退の履歴も示している (山口ほか 1995). 噴火湾の調査定点では、5~7 cm 層と 12~14 cm 層にシスト密度の極大層がみられた (Fig. 22 left). 一方、広島湾では 0~3 cm 層にシスト密度の極大層が観察されている (山口ほか 1995). 噴火湾におけるシストの鉛直分布は、広島湾に比べて深い層に多く存在していること、極大層が 2 つあることなどが異なる. 広島湾を含む瀬戸内海では、*A. tamarense* の発生は 1990 年頃から確認されるようになったといわれている (Imai et al. 2006). 噴火湾では *A. tamarense* による麻痺性貝毒の発生が 1978 年に初めて記録され (西浜ほか 1979), 1979 年から 1991 年まで麻痺性貝毒の毒性値の高い年代があった (北海道立水産試験場 2000). 噴火湾の海底堆積物の 4~7 cm 層に認められたシスト密度の極大は、1978 年以降にシストが大量に堆積物中に埋没した履歴である可能性がある. 他方、12~14 cm 層にみられたシスト密度

の極大は、少なくとも 1978 年以前に *A. tamarense* の発生がほとんどない年代を挟んで、本種が大量に発生した年代があった可能性を示唆する。松本・富樫(1980)は噴火湾の沖合(水深 50 m より沖合)において堆積速度を実測しているが、八雲定点は噴火湾の中でもとりわけ奥に位置し、遊楽部川からの砂泥流入の影響もあるため、堆積速度は沖合より大きい可能性がある。このため、河川水の影響のほとんどない沖合でのシストの採集と同時に堆積速度の測定を実施することが課題となる。

2-3-4-3 発芽活性の季節変化

噴火湾の *A. tamarense* シストは発芽好適水温(10°C)下では2月から5月、現場水温下では1月から5月まで発芽活性が高く、6月から12月の間はほとんど発芽しなかった(Figs. 24, 25)。 *A. tamarense* シストの発芽活性は基本的に季節的な水温の上昇と下降によって生じる好適な範囲の温度によって刺激され、この発芽適温範囲を temperature window と呼ぶ(Anderson and Morel 1979)。 Itakura and Yamaguchi (2001) は、広島湾産の *A. tamarense* のシストが 7~15°C の範囲で活発に発芽し、この範囲が temperature window であることを示した。噴火湾の *A. tamarense* の temperature window は約 7~18°C (上限はそれ以上の可能性あり)と判断された(Fig. 23)。この範囲は板倉・山口の知見と比べて低温域ではほぼ同じ、高温域では 3°C 以上高いことになるが、概して同様の結果とみなすことができよう。2~5 月には培養温度 10°C で高い発芽率(80 % 10-days⁻¹以上)だったのに対し、現場水温の 3~5°C での発芽率が 10 日間で 5 % 以下と低かったこと(Figs. 24, 25)は発芽期の現場水温が temperature window を下回っていたことを意味する。すなわち、噴火湾における *A. tamarense* シストの発芽期(2~5 月)の水温環境は temperature window 範囲外にあったことになる。温帯域に生息する *A. tamarense* の temperature window は比較的狭く、シストが発芽した後に栄養細胞が増殖できる温度帯にある、たとえば広島湾では 10~15°C (Itakura and Yamaguchi 2001)、アメリカのマサチューセッツ州 Cape Cod の salt pond では 5~21°C である(Anderson and Morel 1979)。他方、亜寒帯域に生息する *A. tamarense* の temperature window は広く、氷に覆われる厳寒期を除いたすべての期間で発芽が可能である(1~16°C, Perez et al. 1998)。噴火湾産 *A. tamarense* は温帯域に生息する株に近い temperature window を持つといえる。このように噴火湾産 *A. tamarense* の生理学的特性は温帯域の生息株に近いが、発芽率は低いけれども 3~5°C でも発芽が可能であった。特に 3 月~5 月には 5°C でも 10 日間で 10~20 % の発芽率を持ったことは(Fig. 23)、噴火湾の *A. tamarense* の動態にとって発芽可能温度域が重要となることを示している。

貧酸素条件は *A. tamarense* シストの発芽を抑制する重要な環境要因であり (Anderson et al. 1987, Rengefors and Anderson 1998), 堆積物中のシストは貧酸素の条件下では外因性休眠状態にある (Anderson 1998). また, 暗黒条件が発芽プロセスすべてを阻害する例は少ないが (Binder and Anderson 1986, Anderson et al. 1987, Rengefors and Anderson 1998), 多くの渦鞭毛藻種では暗黒条件で発芽が遅延させられると報じられている (Anderson et al. 1987, Cannon 1993, Rengefors and Anderson 1998). 暗黒条件は発芽そのものを阻害しないものの, 遅延をもたらす抑制要因と考えられる. すなわち, 表面に分布するシストを除く堆積物中のシストは, 酸素濃度の低い海底泥の条件下では貧酸素による外因性休眠状態を余儀なくされ, さらに暗黒によって発芽プロセスが遅延させられていると考えられる. Figs. 24, 25 に示したように, *A. tamarense* シストは光の影響を受ける表層のみならず, 暗黒条件の 3~12 cm 層に分布するものにおいても 6 月から 12 月までは明らかに発芽活性が低く, 休眠期にあったといえる. 逆に, 発芽活性が高い時期 (1~5 月) は発芽期であったといえるが, 現場水温条件下での発芽率が表層に比べて 3~12 cm 層のシストで低かった. このことは堆積物中においてシストは外因性休眠の状態にあっただけでなく, 暗黒条件により発芽プロセスが遅れており, 10 日間の培養実験期間中に発芽できなかったことを意味している可能性がある.

また, 堆積物深層中のシストが表層のシストと同様に, 発芽活性に明らかな休眠期と発芽期が観察されたが, これはシストに内因性休眠のサイクルが存在することを示唆している. 広島湾における *A. tamarense* のシストは約半年の内因性休眠期間を有する (板倉 2007). 噴火湾の *A. tamarense* のシストも同様に, 約 7 か月の内因性休眠期間を必要とすると考えれば, 6 月頃に有性生殖を通じて栄養細胞の接合により新たに形成されるシストが堆積物表層に沈降し, 7 月~1 月の間ほとんど発芽しなかったことを合理的に説明できる. これに対して, 常に外因的に発芽を抑制されている 3~12 cm 層の堆積物に分布するシストについては, 新規加入シストが入れ替わる可能性はほとんどないと考えられる. それにも関わらず, 表層のシストとほぼ同じ生理的挙動を示したことは別の発芽期と休眠期の切り替えメカニズムがある可能性がある. 一部の植物プランクトンのシストの中には, 発芽可能な状態にあるシストが外的要因 (たとえば, 光, 温度, 溶存酸素, 埋設による物理的発芽阻害) により発芽を抑制された状態が一定期間続くと, 発芽能を失い休眠 (二次休眠) の状態になることが知られている (今井 2012). *A. tamarense* にもこの二次休眠の現象が報告されている (Anderson and Keafer 1987). 培養実験によって 3~12 cm 層のシストにみられた休眠期と発芽期の交代は, 二次休眠で説明することができる. 約 7 ヶ月

の内因性休眠と二次休眠という生理的特性によって、噴火湾におけるシストの発芽には季節性が保たれ、*A. tamarense* のブルームが3～6月を中心に繰り返される季節サイクルを支えていると考えられる。

第4節 *A. tamarense* の個体群動態

2-4-1 緒言

有害有毒藻類 (harmful algae) の大量発生機構を解明するためには、現場海域における海況、気象条件等、環境要因の変動と対象藻の出現特性との関係を明らかにする環境面からアプローチする方法と、対象種の増殖生理や生態、生活史の解明といった生物学的側面からアプローチする方法がある (岩崎 1973, 山口 1994)。噴火湾における *A. tamarense* の個体群動態については、現場観測結果を基本にした環境との関係が論じられてきた (西浜ほか 1979, 1980, 西浜・佐藤 1981, Shimada et al. 1996, 嶋田ほか 2000)。

本章第1節ではモニタリングの長期データを整理し、1981～2012年までの間に大規模ブルーム年は3回あり、ここ10年はブルーム規模が小さいこと、3月の水柱平均水温が上昇傾向にあること、4月の水柱平均塩分が上昇傾向にあることを明らかにした。第2節では、実験室における培養実験を通じて得られた栄養細胞の増殖と温度や光との関係を調べ、噴火湾産 *A. tamarense* の栄養細胞は低水温 (3～5°C) 環境と弱い光環境での増殖に順応していることを示した。

他方、シストについては海底表層堆積物中の分布密度についての調査が行われてきた (福代 1980, パスコ (株) 1991, 金子ほか 1993, 1994, 1995, Shimada and Miyazono 2005)。これらのうち、八雲定点近傍の水深 40 m 付近における調査結果を用いて、表層堆積物中のシスト密度の推移をみると (Fig. 26), 1979 年のシスト密度は 85 cysts cm⁻³ であったが、1985 年には 117 cysts cm⁻³, 1990 年初頭には 1,122 cysts cm⁻³ に増加し、その後直線的に減少し、1998 年には 200 cysts cm⁻³ を下回っている。このようなシスト密度の経年変化は、Table 1 に示した 1980 年代の中・大規模ブルームにより 1990 年初頭にかけてシストポピュレーションが増大し、その後の非ブルーム年や小規模ブルーム年の連続によりシストポピュレーションが減少したことを示していると言える。シストの発芽を誘導する要因は、Harmful Algal Bloom (HAB) を含むプランクトン動態予測のための効果的なモニタリングを支えるための重要な研究である (Genovesi et al. 2006)。

第3節では、現場観察と実験室における培養実験を通じて本種のシストの temperature window が 7～18°C 以上であること、約 7 か月間の内因性休眠期を持つことを明らかにした。しかし、個体群動態におけるシストの発芽の役割についての検討がなされていないため、経年的なシスト密度の変化がブルーム形成

にどのように影響しているかは不明である．そこで本節では，第2節，第3節で得られた培養実験結果から，栄養細胞については水温，光条件（光強度と日長）と増殖速度の関係式，シストについては月別の海底直上水温と発芽率の関係式を作成し，3回の大規模ブルーム年である1984, 1989, 1994年の現場観察結果について検討を加えた．

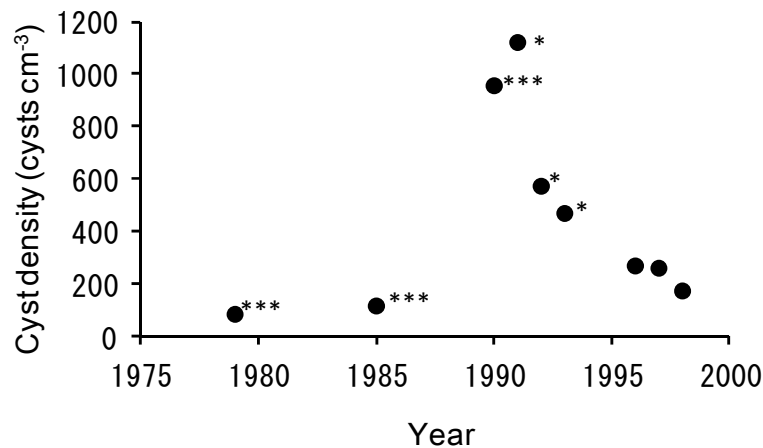


Fig. 26. Annual variation of cyst density of *A. tamarense* in surface sediments of 0-2 and/or 0-5 cm layer collected from sea bottom near Yakumo station from 1979 to 1998. Cysts were enumerated with primulin staining method (Yamaguchi et al. 1995). *: data from Kaneko et al. (1993, 1994, 1995), ***: data from PASCO Inc. (1991).

2-4-2 材料と方法

2-4-2-1 環境データから推定される栄養細胞の増殖速度およびシストの発芽率

A. tamarense の大規模ブルーム年である1984年，1989年（落部定点）および1994年（八雲定点）の1月から，栄養細胞が消失した月（1984, 1994年は7月，1989年は8月）までの，現場水温と光環境を反映した栄養細胞の増殖とシストの発芽プロセスにより，現場観測の結果の説明を試みた．温度によって光強度と増殖速度の関係式は異なったため（第2章第2節），現場の水温条件はモニタリング結果を用いた．現場での光条件は，室蘭における1984, 1989, および1994年の各月平均全天日射量（ $\text{MJ m}^{-2} \text{day}^{-1}$ ）を日長（日の出と日の入時間の差）で割ることにより日平均全天日射量（ $\text{MJ m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ）を求め，Table 4に示した1996～1998年に八雲定点で観測した各月の光の平均透過率を使って，観測時の水柱の各層における光環境を推定した．全天日射量（ $\text{MJ m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ）から光強度（ $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）への換算には次の関係式を用いた（Thimijan and Heins 1983）．

$$1 \text{ J m}^{-2} \text{ s}^{-1} = 1 \text{ W m}^{-2}$$

$$4.57 \text{ W m}^{-2} \doteq \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1} \quad (\text{昼間快晴条件})$$

そこで，培養実験で得た温度別の光－増殖曲線式のうち，現場水温に近い温度の式を適用し，光条件のデータを用いて，1984, 1989, 1994 年における観測時・各層の増殖速度を推定した．さらに，異なる温度における日長と増殖速度との関係 (Fig. 18 B) を用いて，日長 14 時間のときの増殖速度 ($\mu_{14\text{h-day}}$) に対する増殖速度の増減について次の関係式 (11) ～ (14) を作成した．これにより，各観測日の増殖速度 (μ_{obs}) は (10) 式によって日長の影響を補正した．なお，水温 3°C での実験は行われていないため，便宜的に 5°C 下における実験結果をあてはめた (Table 5)．

$$\mu_{\text{obs}} = \mu_{14\text{h-day}} \times a \quad \dots\dots\dots (10)$$

$$\text{水温 } 3, 5^{\circ}\text{C}: a = 0.18\text{DL} - 1.54 \quad (r^2 = 0.52) \quad \dots\dots\dots (11)$$

$$\text{水温 } 10^{\circ}\text{C}: a = 0.05\text{DL} + 0.38 \quad (r^2 = 0.91) \quad \dots\dots\dots (12)$$

$$\text{水温 } 15^{\circ}\text{C}: a = 0.03\text{DL} + 0.65 \quad (r^2 = 0.80) \quad \dots\dots\dots (13)$$

$$\text{水温 } 18^{\circ}\text{C}: a = 0.02\text{DL} + 0.75 \quad (r^2 = 0.57) \quad \dots\dots\dots (14)$$

μ_{obs} : 各観測日・各層の増殖速度

$\mu_{14\text{h-day}}$: 実験室で得た日長 14 時間のときの増殖速度

a : 各温度における日長補正係数

DL : 観測日の日長 (時間)

他方，シストの発芽状況を見積もるためには，1984, 1989, 1994 年，それぞれの 1 月時点でどのくらいのシストが落部，八雲定点に分布していたかを知る必要がある．Fig. 26 に示した 1979 年と 1990 年の実測値を直線補完すると 1984 年，1989 年の初期シスト数はそれぞれ，112, 789 cysts cm^{-3} と見積もられた．1993 年と 1996 年の実測値を直線補完すると，1994 年の初期シスト数は 403 cysts cm^{-3} と算出された．第 3 節の実験では温度が発芽活性に及ぼす影響は月によって異なったので (Fig. 23)，月別に温度と発芽の関係を 4 次の多項式で表した．各月の関係式は次の (15) ～ (21) である．Ex は発芽率 (% 10-days⁻¹)，t は海底直上水温である．海底直上水温はモニタリング結果の 30 m 層の水温を適用し，各年の各調査日におけるシスト発芽率を推定した．なお，下記の近似式 (15) ～ (21) では実験水温以下の低温域で発芽率が負の値をとる場合があったので，その場合には発芽率は 0 と仮定した．噴火湾における *A. tamarensis* シストの休眠期は 8 月から 12 月までなので (Fig. 24)，8 月の発芽率は 0 とした．

Table 5. Growth rates of *A. tamarense* at each depth of 0 – 30 m water column on the sampling days in the large bloom years (1984, 1989, 1994) estimated from light and temperature conditions. Fitting of light – growth formula were carried out by adopting the results obtained at 3, 5, 10, 15, 18°C culture experiments using the data of water temperature from January to July in 1984, 1989, and 1994. 3°C formula: 1.2~4.0°C, 5°C formula: 4.1~7.5°C, 10°C formula: 7.6~12.5°C, 15°C formula: 12.6~16.5°C, 18°C formula: 16.6~18°C. The growth rates were compensated with the effects of day length by using relationship between day length and the growth rates under temperatures of 5, 10, 15, 18°C.

1984		10-Jan	17-Jan	13-Feb	5-Mar	21-Mar	16-Apr	7-May	4-Jun	2-Jul	10-Jul	24-Jul	21-Aug	
0	0	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.26	0.45	0.46				
5	0	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.25	0.42	0.45				
10	0	0.17	0.17	0.18	0.16	0.16	0.18	0.18	0.37	0.43				
15	0	0.17	0.17	0.17	0.14	0.14	0.17	0.17	0.21	0.37				
20	0	0.15	0.15	0.16	0.09	0.09	0.15	0.15	0.16	0.28				
25	0	0.12	0.12	0.15	0.06	0.06	0.12	0.13	0.12	0.27				
30	0	0.04	0.04	0.11	0.01	0.01	0.02	0.04	0.05	0.19				
1989		1-Feb	23-Feb	14-Mar	22-Mar	10-Apr	24-Apr	8-May	22-May	5-Jun	22-Jun	10-Jul	24-Jul	21-Aug
0	0	0.00	0.00	0.18	0.18	0.26	0.26	0.26	0.45	0.47	0.47	0.46	0.45	0.45
5	0	0.00	0.00	0.17	0.17	0.25	0.25	0.25	0.43	0.43	0.43	0.45	0.44	0.44
10	0	0.00	0.00	0.15	0.15	0.18	0.24	0.24	0.24	0.38	0.38	0.41	0.43	0.43
15	0	0.00	0.00	0.13	0.13	0.17	0.17	0.23	0.23	0.33	0.33	0.38	0.40	0.41
20	0	0.00	0.00	0.07	0.07	0.14	0.14	0.19	0.19	0.16	0.21	0.28	0.28	0.29
25	0	0.00	0.00	0.04	0.04	0.11	0.11	0.15	0.15	0.13	0.15	0.28	0.28	0.29
30	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.05	0.05	0.06	0.05	0.28	0.28	0.29
1994		20-Jan	24-Feb	3-Mar	15-Mar	18-Apr	23-May	27-Jun	25-Jul					
0	0	0.08	0.10	0.11	0.12	0.24	0.47	0.48	0.46					
5	0	0.07	0.10	0.10	0.12	0.23	0.45	0.46	0.46					
10	0	0.07	0.09	0.09	0.10	0.22	0.42	0.42	0.44					
15	0	0.06	0.09	0.08	0.09	0.16	0.26	0.37	0.41					
20	0	0.05	0.08	0.05	0.05	0.14	0.22	0.25	0.32					
25	0	0.04	0.08	0.03	0.03	0.11	0.18	0.18	0.29					
30	0	0.01	0.06	0.00	0.00	0.01	0.05	0.07	0.29					
:formula fitting to in situ water temperature														
1.2-4.0		4.1-7.5		7.6-12.5		12.6-16.5		16.6-						
3°C		5°C		10°C		15°C		18°C						

$$\begin{aligned}
1 \text{ 月} : Ex &= 0.0031 t^4 - 0.1187 t^3 + 1.4067 t^2 - 5.0014 t + 4.1325 & (r^2 = 0.89) \cdots \cdots (15) \\
2 \text{ 月} : Ex &= 0.00541 t^4 - 0.3381 t^3 + 5.5197 t^2 - 20.67 t + 17.469 & (r^2 = 0.98) \cdots \cdots (16) \\
3 \text{ 月} : Ex &= -0.0009 t^4 - 0.0246 t^3 + 1.2648 t^2 - 4.209 t + 4.0102 & (r^2 = 0.99) \cdots \cdots (17) \\
4 \text{ 月} : Ex &= 0.0106 t^4 - 0.4582 t^3 + 6.0985 t^2 - 18.865 t + 14.108 & (r^2 = 0.99) \cdots \cdots (18) \\
5 \text{ 月} : Ex &= 0.0132 t^4 - 0.5831 t^3 + 7.7116 t^2 - 26.085 t + 19.986 & (r^2 = 0.99) \cdots \cdots (19) \\
6 \text{ 月} : Ex &= 0.0083 t^4 - 0.3334 t^3 + 4.0854 t^2 - 14.397 t + 12.056 & (r^2 = 0.94) \cdots \cdots (20) \\
7 \text{ 月} : Ex &= 0.0008 t^4 - 0.0307 t^3 + 0.354 t^2 - 1.2106 t + 0.96 & (r^2 = 0.94) \cdots \cdots (21)
\end{aligned}$$

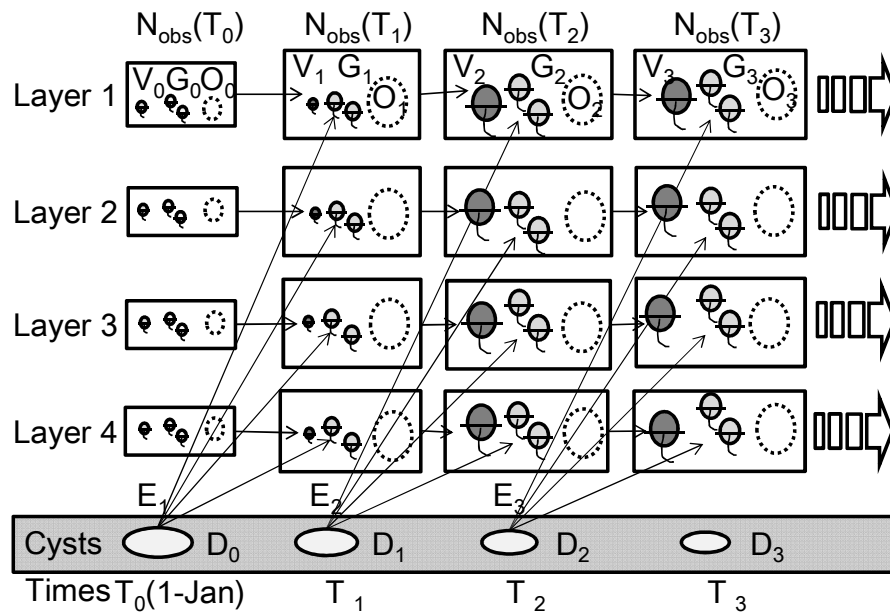


Fig. 27. Schematic diagram of composition of the vegetative cell number of *A. tamarensis* observed on T_n at Yakumo station. It is assumed that the cell numbers on T_n are affected by cyst germination, cell division and other factors. G_n (Germinated cell population) is the vegetative cell added from cyst germination between T_{n-1} and T_n. V_n (Vegetative cell population) is the vegetative cell division from N_{obs}(T_{n-1}) between T_{n-1} to T_n. E_n (Excystment number) is the germination number between T_{n-1} and T_n. O_n is the difference between N_{obs}(T_n) and (G_n + V_n). D_n is the cyst number at T_n. D₀ is the cyst number assumed by interpolation of the data of Fig. 25 at T₀ (1-January). It is assumed that G₀=0, V₀=0 and O₀=0.

2-4-2-2 増殖および発芽過程の個体群動態における役割

1984, 1989 および 1994 年の 1 月から栄養細胞が消失した 7 月までの、各観測日観測層における栄養細胞の変化を、栄養細胞の増殖と各観測日間のシスト発芽およびその他要因によって説明することを試みた (Fig. 27). 培養実験によると、*A. tamarensis* のシストの休眠期は 8 月から 12 月であった (Fig. 24). また、栄養細胞の初出は 32 年間のうち 1995 年と 2005 年の 2 年間を除き、2 月か 3 月であり、1 月の出現はほとんどない (Table 1). これらのことから、1 月 1 日を基準日 (T₀) と定め、このとき *A. tamarensis* はシストとして分布し、栄養細胞

として出現しないと仮定した．すなわち， T_0 における栄養細胞の観察値 ($N_{\text{obs}}(T_0)$)，シスト発芽による栄養細胞数 (G_0 : Germination)，増殖による栄養細胞数 (V_0 : Vegetative cell division)，その他要因による栄養細胞数 (O_0 : Other factors) はいずれも 0 である．各観測日の各観測層における観察値 ($N_{\text{obs}}(T_n)$) の変化はシスト発芽によって添加される栄養細胞数 (G_n) と前回の観測日に観察された栄養細胞の増殖による細胞数 (V_n) とその他要因により増減した細胞数 (O_n) によって構成されたと考えた．落部，八雲定点は水深が約 35 m なので， $1 \times 1 \times 3500 \text{ cm}^3$ の水柱を計算の基本単位とした． T_0 におけるシスト数 (D_0) は 1984, 1989, 1994 年でそれぞれ，112, 789, 403 cysts cm^{-3} とした．

発芽したシスト細胞と栄養細胞はともに遊泳能力を持ち，栄養細胞(単細胞)の遊泳速度は水温 8～16°C の間で $100 \sim 200 \mu\text{m s}^{-1}$ であり，連鎖細胞の遊泳速度は単細胞に比べて早い (Lewis et al. 2006)．この知見に従うと，35 m 水柱を海底から表面まで到達するには 2～4 日必要と考えられる．他方，調査日は 7～14 日程度の間隔があるので，調査日 (T_n) には T_{n-1} から T_n の間に発芽したシスト (E_n : Excystment) が栄養細胞数 (V_n) として水柱に均質に供給されたと仮定した．この間，底質表層中のシスト数は D_{n-1} から発芽分が減少し D_n となる．このように，各年の調査日間の栄養細胞数変化プロセスを観測による栄養細胞の実測値を基準として計算し，これら 3 つの要因の関係から栄養細胞の増殖とシストの発芽の役割を評価した．

計算項目と計算式は次の (22) ～ (26) である．

堆積物表層のシスト数 (cysts cm^{-3}) :

$$D_t = D_0 - \int_{t=1}^{n-1} D_t dt \quad \dots\dots\dots (22)$$

シスト発芽数 (cysts cm^{-3}) :

$$E_n = D_{n-1} \times (T_n - T_{n-1}) / 10 \times (Ex_n + Ex_{n-1}) / 2 \dots\dots\dots (23)$$

シストによる栄養細胞添加数 (cells L^{-1}) :

$$G_n = 2 \times E_n \times 1000 / 3500 \dots\dots\dots (24)$$

栄養細胞の増加 (cells L^{-1}) :

$$V_n = N_{\text{obs}}(T_{n-1}) \times \exp((\mu_n + \mu_{n-1}) / 2 \times (T_n - T_{n-1})) \dots\dots\dots (25)$$

その他要因による栄養細胞の変化 (cells L^{-1}) :

$$O_n = N_{\text{obs}}(T_n) - G_n - V_n \quad \dots\dots\dots (26)$$

ここで， μ_n は調査日 (T_n) における栄養細胞の増加率 (divisions day^{-1})， Ex_n は T_n におけるシストの発芽率 (% 10-days $^{-1}$) である．

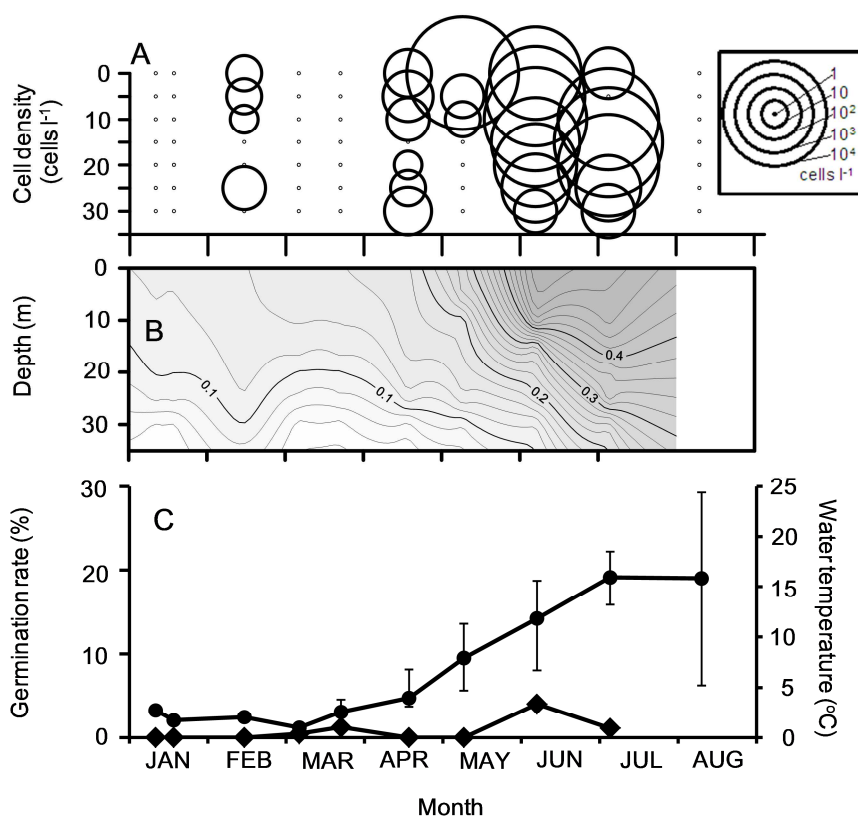


Fig. 28. Monitoring data (Seasonal change in cell densities of *A. tamarensis* at Otoshibe station in 1984: A), estimated growth rates (divisions day⁻¹) using water temperature and light intensity from the results of the culture experiments (B), germination rates of the cysts calculated using the bottom water temperature (♦, % month⁻¹; C) and water temperature (●, average in the water column, vertical bars indicate maximum and minimum: C).

2-4-3 結果と考察

2-4-3-1 個体群動態と栄養細胞の増殖特性およびシストの発芽特性

1984 年の *A. tamarensis* の個体群動態を Fig. 28 A に示した。シストの発芽は期間を通じて低く、6 月に 4.0 % 10-days⁻¹ となった (Fig. 28 C)。初期個体群を形成する時期 (1~4 月) の栄養細胞の予測増殖速度が 0.1 divisions day⁻¹ 以上となる期間は 20 m 以浅では 1 月から持続した。5~7 月には表層を中心に予測増殖速度は大きくなり、5 月には 10 m 以浅で、7 月には 20 m 以浅で 0.4 divisions day⁻¹ を越えた (Fig. 28 B)。水柱平均水温および最大・最小値の推移を Fig. 28 C に示した。ブルーム消失のきっかけと考えられる水温 14°C (第 2 章第 2 節) は 6 月下旬に超えた。

1989 年の *A. tamarensis* の個体群動態を Fig. 29 A に示した。シスト発芽率は 5 月以降に高くなり、5, 6 月には 20 % 10-days⁻¹ を越えた (Fig. 29 C)。初期個体群を形成する 1~4 月の栄養細胞の予測増殖速度が 0.1 divisions day⁻¹ 以上となるの

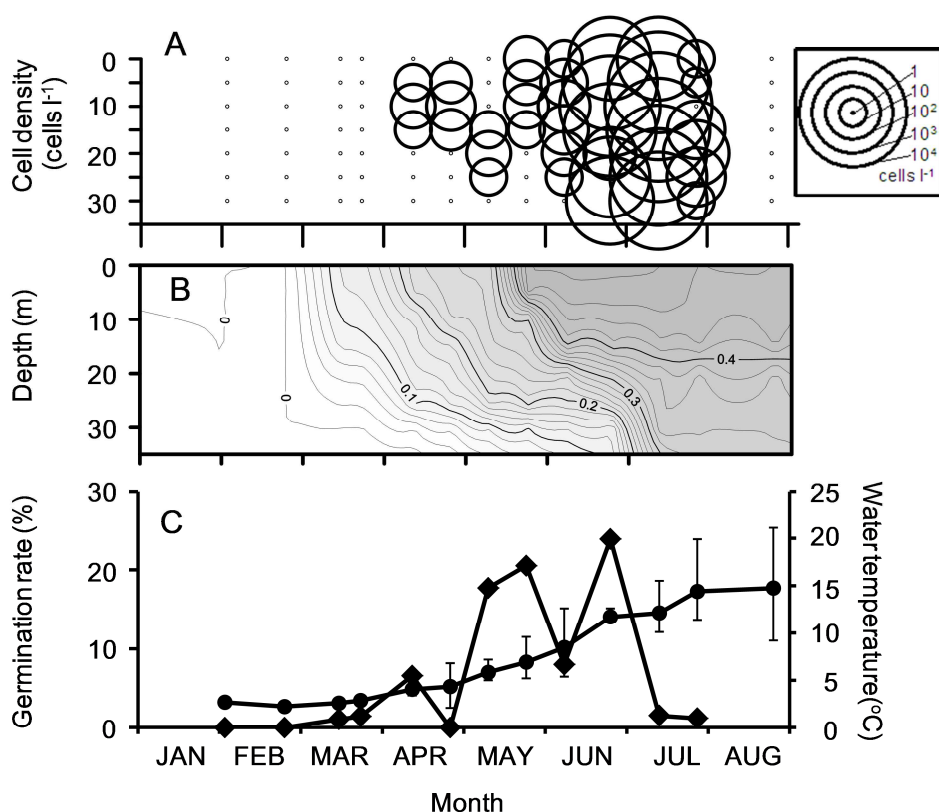


Fig. 29. Monitoring data (Seasonal change in cell densities of *A. tamarense* at Otoshibe station in 1989: A), estimated growth rates (divisions day⁻¹) using water temperature and light intensity from the results of the culture experiments (B), germination rates of the cysts calculated using the bottom water temperature (◆, % month⁻¹; C) and water temperature (●, average in the water column, vertical bars indicate maximum and minimum: C).

は2～3月では10～20 m以浅に限られた。予測増殖速度は6～7月には10～20 m以浅で0.4 divisions day⁻¹を越えた (Fig. 29 B)。水柱平均水温は1984年に比べるとやや低めに推移し (Fig. 29 C)、水温14°Cを超えたのは7月中旬以降であった。

1994年の*A. tamarense*の個体群動態についてはFig. 30 Aに示した。シストの発芽率は5, 6月に高く、10 % 10-days⁻¹を越えた (Fig. 30 C)。初期個体群を形成する1～4月の栄養細胞の予測増殖速度が0.1 divisions day⁻¹以上となる期間は1月からみられたが、断続的、かつ浅い層に限られ、20 m層で0.1 divisions day⁻¹を越えるのは4月下旬であった。5月下旬から7月の最大予測増殖速度は表層でも、0.3～0.4 divisions day⁻¹であった (Fig. 30 B)。水柱平均水温は1989年並に推移し (Fig. 30 C)、水温14°Cを超えたのは7月下旬であった。

以上のように、3回の大規模ブルーム年におけるシスト発芽状況や栄養細胞の予測増殖速度はその年によって異なるパターンを示した。このことは大規模ブルーム形成に一定のパターンを適用することは難しく、1989年はシストの発

芽状況，栄養細胞の増殖活性ともに良かったケース，1984 年はシストの発芽状況は悪いが，その後の栄養細胞の増殖活性が高いケース，1994 年はシストの発芽状況は良いが，その後の栄養細胞の増殖活性が両年に比べて相対的に高くないケースに類型分けできる．

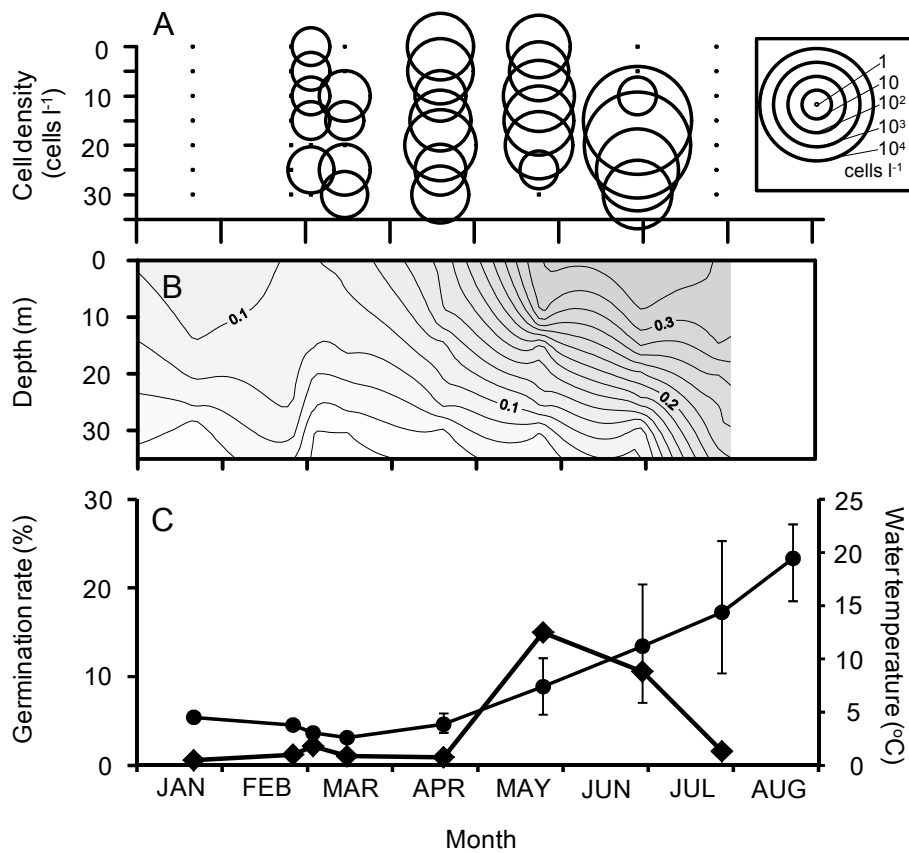


Fig. 30. Monitoring data (Seasonal change in cell densities of *A. tamarensis* at Yakumo station in 1994: A) , estimated growth rates (divisions day⁻¹) using water temperature and light intensity from the results of the culture experiments (B) , germination rates of the cysts calculated using the bottom water temperature (◆, % month⁻¹; C) and water temperature (●, average in the water column, vertical bars indicate maximum and minimum: C).

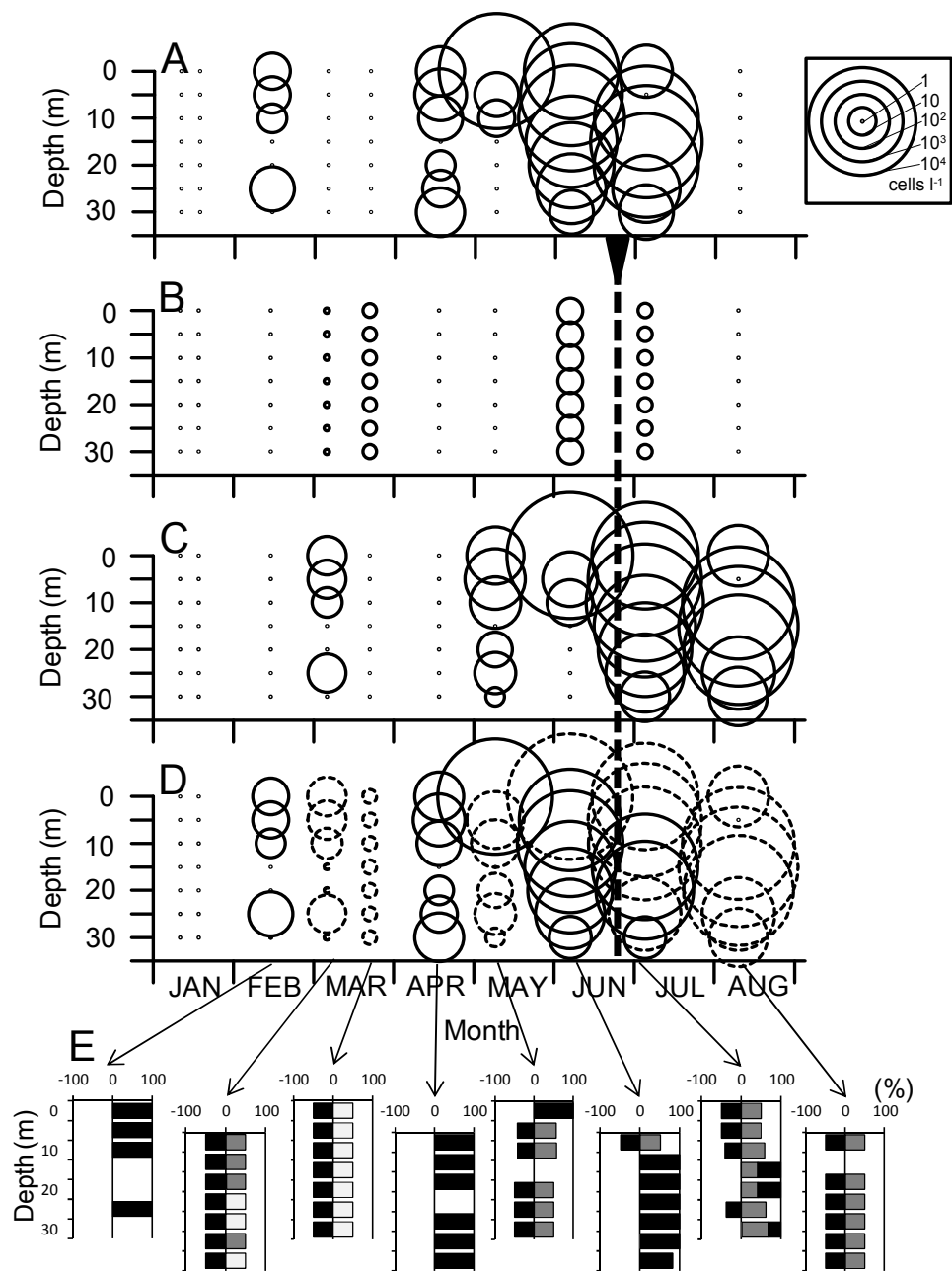


Fig. 31. The observed number of vegetative cells (A), estimated vegetative cell number inoculated from cyst germination (B), the estimated vegetative cell number by growth (C), and the estimated vegetative cell number fluctuated by the other factors (D), in 1984. Solid circles and dotted circles were increased cell numbers and decreased cell numbers, respectively. Composition of cyst germination (white), vegetative cell division (gray) and the others (black) in observed vegetative cells numbers (E). Vertical bold broken line indicate the timing when the average water temperature exceeded 14°C which is known as the upper limit of active growth of *A. tamarens* in Funka Bay (Nishihama et al. 1980, Shimada 2000).

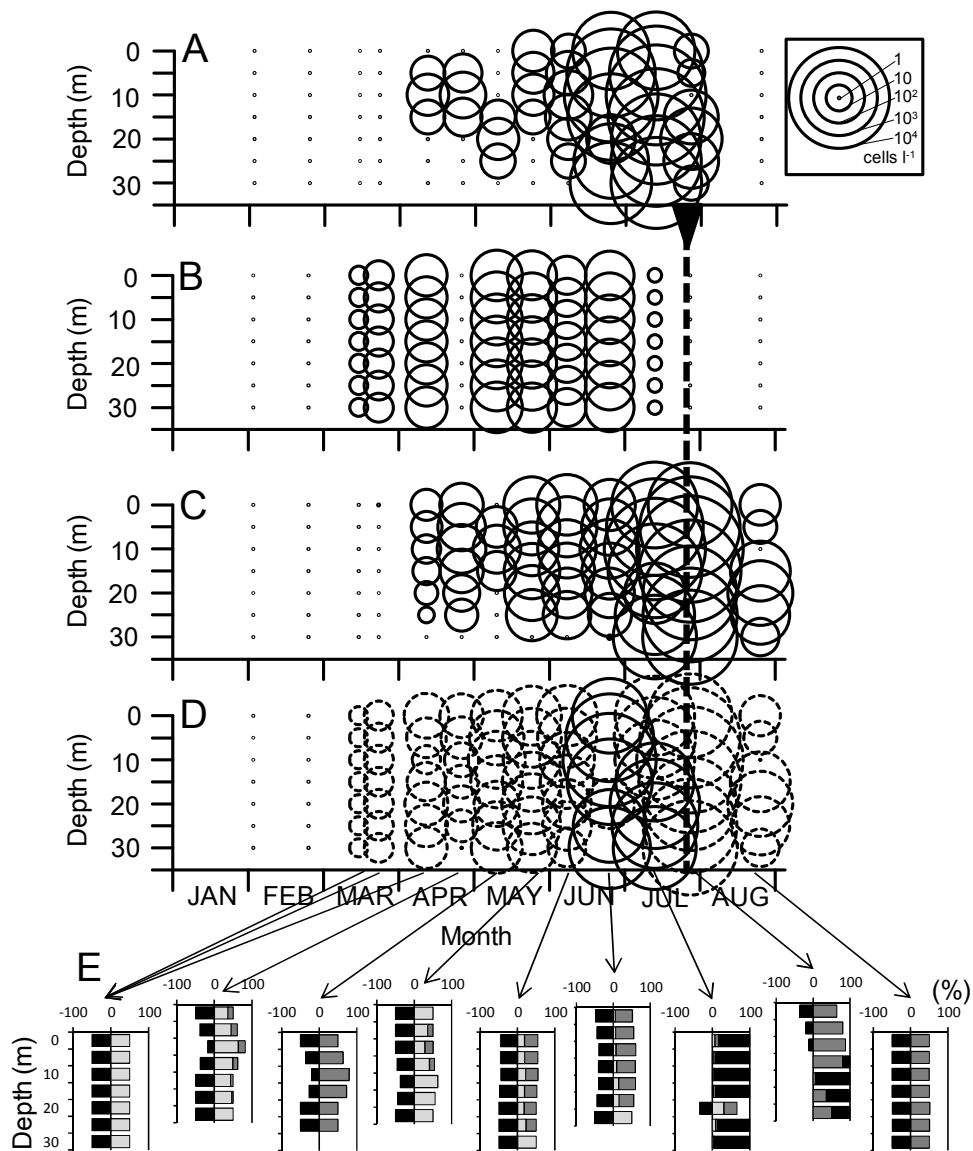


Fig. 32. The observed number of vegetative cells (A), estimated vegetative cell number inoculated from cyst germination (B), the estimated vegetative cell number by growth (C), and the estimated vegetative cell number fluctuated by the other factors (D), in 1989. Solid circles and dotted circles were increased cell numbers and decreased cell numbers, respectively. Composition of cyst germination (white), vegetative cell division (gray) and the others (black) in observed vegetative cells numbers (E). Vertical bold broken line indicate the timing when the average water temperature exceeded 14°C which is known as the upper limit of active growth of *A. tamarense* in Funka Bay (Nishihama et al. 1980, Shimada 2000).

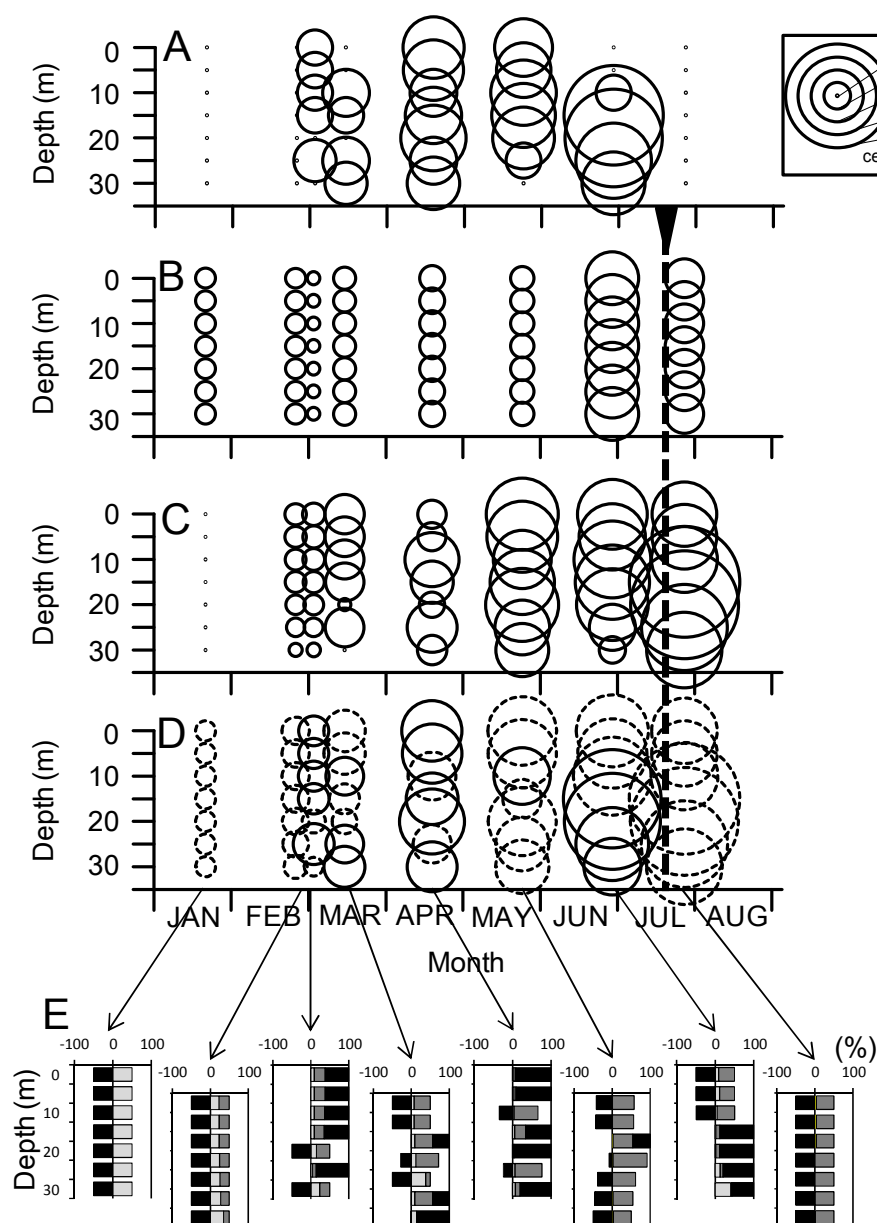


Fig. 33. The observed number of vegetative cells (A), estimated vegetative cell number inoculated from cyst germination (B), the estimated vegetative cell number by growth (C), and the estimated vegetative cell number fluctuated by the other factors (D), in 1994. Solid circles and dotted circles were increased cell numbers and decreased cell numbers, respectively. Composition of cyst germination (white), vegetative cell division (gray) and the others (black) in observed vegetative cells numbers (E). Vertical bold broken line indicate the timing when the average water temperature exceeded 14°C which is known as the upper limit of active growth of *A. tamarensis* in Funka Bay (Nishihama et al. 1980, Shimada 2000).

2-4-3-2 個体群動態における栄養細胞の増殖過程およびシストの発芽過程の評価

1984, 1989, 1994 年において現場で観察された栄養細胞数と、シストの発芽と栄養細胞の増殖の役割を評価するためのモデル (Fig. 27) を使った調査日間のシストの発芽, 栄養細胞の増加, およびその他要因による栄養細胞の変化, ならびに栄養細胞数の変化に占める 3 つの要因の割合をそれぞれ, Figs. 31, 32, 33 に示した.

1984 年はシストの発芽が低調で, 水柱への栄養細胞の供給は断続的であったと推定された (Fig. 31 B). この期間に発芽したシスト総数は 20 cysts cm^{-3} であり, 初期シスト数 $112 \text{ cysts cm}^{-3}$ の 18 %に過ぎない. 調査日間の増殖による栄養細胞数は 7 月上旬の表層で最大 $49,887 \text{ cells L}^{-1}$ と予測された (Fig. 31 C). この値は現場観察された最大細胞数 $14,300 \text{ cells L}^{-1}$ の 3.5 倍に相当した. その他要因による調査日間中の栄養細胞増減は非常に大きいと見積もられた (Fig. 31 D). 2 月の栄養細胞の初出はその他要因による添加であり, その後 3 月にはシスト発芽と栄養細胞の増殖があったが, その他要因によって消失した. このため, 4 月の栄養細胞出現はその他要因によって説明された. 5 月の 5 m 以深では栄養細胞の増殖分がその他要因によって消失し, 表層での細胞数増加は栄養細胞の増殖とその他要因によってもたらされた. 6 月は逆に表層での細胞数はシストからの添加と栄養細胞の増殖にその他要因による減少が加わった. 5 m 以深ではその他要因による増加がみられた. 7 月には栄養細胞の増殖に対してその他要因による減少が 0~10 m 層で, 増加が 15~30 m 層でそれぞれ見られた. 8 月には栄養細胞の増殖分はその他要因により消失した. これらの変化を割合で示したところ, シスト発芽の栄養細胞増加に対する貢献がほとんど検出できなかった (Fig. 31 E).

1989 年は 4 月下旬を除き, 連続してシストの発芽がみられた. (Fig. 32 B). この期間に発芽したシスト総数は $611 \text{ cysts cm}^{-3}$ であり, 初期シスト数 $789 \text{ cysts cm}^{-3}$ の 77.4 %を占めた. それに続く栄養細胞の増殖もスムーズであった (Fig. 32 C). 調査日間の増殖による最大栄養細胞は 7 月下旬の 10 m 層で $16,922 \text{ cells L}^{-1}$ と見積もられ, 現場観察された最大細胞数 $9,120 \text{ cells L}^{-1}$ の 1.9 倍に相当した. 6, 7 月を除いていずれもその他の要因による栄養細胞の減少が認められた (Fig. 32 D). すなわち, その他要因は 3 月中のシスト発芽による栄養細胞添加を阻害

し、4、5月のシスト発芽と栄養細胞の増殖を抑制した。6月下旬と7月上旬の15 m以深ではその他要因が栄養細胞の増加に貢献したものの、7月上旬の10 m以浅と7月下旬では栄養細胞の増殖分がその他要因によって抑制され、8月には栄養細胞の増殖分はその他要因により消失した。これらの変化を割合でみると、1989年は4月中旬の5~15 m層と5月上旬の15~25 m層でシストによる栄養細胞添加が主な増加要因（増加要因の40~50%）となっており、4~5月の順調なシスト発芽が初期個体群形成に繋がったと判断された（Fig. 32 E）。

1994年はシストの発芽が1月から順調であった（Fig. 33 B）。この期間に発芽したシスト総数は238 cysts cm⁻³であり、初期シスト数403 cysts cm⁻³の59.1%であった。4月まで栄養細胞の増殖は小さかったが、最大細胞数は7月下旬の15 m層で18,559 cells L⁻¹と見積もられた（Fig. 33 C）。この値は現場で観察された最大細胞数6,740 cells L⁻¹の2.8倍であった。その他要因による栄養細胞の増減は観察日の各層で異なり、1984年と同様に複雑であった（Fig. 33 D）。3月まではその他要因による栄養細胞の減少が初期個体群形成を阻害した。4月には、その他要因はおおむね栄養細胞の増加に寄与したものの、5月にはブルーム増大を阻害した。6月には10 m以浅では栄養細胞の増殖を阻害し、15 m以深では増加に寄与した。7月にはその他要因によりシスト発芽による増加と栄養細胞増殖分は消失した。これらの変化を割合で示したところ、1994年は3~4月のシスト発芽の貢献度は1989年（10~30%）ほど高くないが、シストの発芽が初期個体群の形成に貢献したと判断された（Fig. 33 E）。

一般的に現場海域での植物プランクトンの増殖には、水温、塩分、光強度、潮流、風などの物理的要因、栄養塩濃度などの化学的要因、他の生物による捕食や競争などの生物的要因など、様々な要因が複雑に関係している（Parsons et al. 1984）。海況変化が大きい沿岸域や汽水域における*Alexandrium*のブルームのメカニズムは大変複雑でそれを完全に解明することは困難であるが、その理由のひとつとして鞭毛運動による鉛直移動あるいは生理的な適応などの生物的特性と物理場との関連性についての情報が不足していることが指摘されている（Anderson et al. 2012）。

噴火湾における*A. tamarense*のブルーム形成は水柱の鉛直安定度との関わりが大きく（Fig. 11）、この鉛直安定度は太陽による加熱と陸水の流入に加え、親潮系水の湾内への侵入のタイミングと勢力に影響される（Shimada et al. 1996）。

噴火湾における本種のブルームは2, 3月頃に起きる珪藻ブルームの約1~2か月後にみられる(嶋田 2000)。噴火湾における春季珪藻ブルームは湾内の生態系における非常に大きなイベントであり、ブルーム前後で化学、生物環境は大きく変化する。珪藻ブルームの引き金は2月頃に表層から流入する親潮系水の流入による水柱安定度の増加である(Tanaka 1984, Shinada et al. 1999, Kudo and Matsunaga 1999)。冬期間に増加した DIN (無機態窒素) は珪藻ブルームにより枯渇し、DIP (無機態リン) が残る(芳村・工藤 2003)。噴火湾の沿岸部では珪藻ブルーム後に DIN が急減し、陸水由来の DON が増加する(宮園・嶋田, 2000)。 *A. tamarense* は効果的に DON を窒素源の一部(最大 TN の 75 %) として利用できる(Stolte et al. 2002) ので、4月の DON 増加はその他の増加要因の一つの有力なものと考えられる。

近年、*A. tamarense* の栄養形態は光合成のみならず、溶存有機物を吸収できること(Mixotrophy: Dyhrman and Anderson 2003)、微小藻虫を摂取できること(Phagotrophy: Jeong et al. 2010) 等が明らかになっているため、Anderson et al. (2012) は従来の実験室での培養条件による *Alexandrium* 属の増殖速度の見積もりは過小評価している可能性を指摘している。このため、本種の増殖には Mixotrophy や Phagotrophy に適した環境を考慮する必要があるが、下記の通り、珪藻ブルーム後には本種の Mixotrophy や Phagotrophy に関わる微小鞭毛藻や繊毛虫などマイクロ動物プランクトンおよびカイアシ類を中心としたメソ動物プランクトンの現存量増加が認められることから、その他の増加要因として、未解明の栄養形態の影響も考慮する必要がある。

一方、有鐘繊毛虫の現存量が最大となる時期は珪藻ブルームのピークにやや遅れるが、ほぼ同調した経時変化を示すと報告されている(土肥 1982)。繊毛虫を含むマイクロ動物プランクトン(体長 20~200 μm サイズ)の現存量は植物プランクトン現存量の増減と同調し、珪藻ブルーム時期に現存量は最大となるという(伴 2000)。噴火湾では珪藻ブルーム時期に生産される植物プランクトンの多くは微小動物プランクトン、特に従属栄養性渦鞭毛藻に摂食されることが観察されている(小達 1990)。マイクロ動物プランクトンは増殖速度が速いこと、高い捕食速度を持つことから HAB に対する重要な捕食者として認識され

(Pierce and Turner 1992, Hansen et al. 1997)、繊毛虫と従属栄養渦鞭毛藻の捕食が HAB の動態に影響を及ぼしていることがフィールド研究で強く示唆されて

いる (Watras et al. 1985, Nakamura et al. 1995, 1996). *A. tamarense* については、絨毛虫が盛んに捕食することが飼育実験で観察されている (Stoecker et al. 1981, Stoecker and Guillard 1982, Hansen 1989, Hansen et al. 1992, Kamiyama et al. 2005). さらに、絨毛虫の捕食圧は *A. tamarense* のブルーム動態に影響しうることが指摘されている (Kamiyama et al. 2005). これらのことから、珪藻ブルームに同調的に増加するミクロ動物プランクトン現存量の増加はその他の減少要因の中で有力なものの一つと考えることができる.

A. tamarense の初期個体群形成から増加時期である 2~5 月のカイアシ類に代表されるメソ動物プランクトン (体長 0.2~2 mm サイズ) の現存量の推移をみると、現存量は 2~3 月の珪藻ブルームの約 2 か月後の 5 月に増大する (西浜ほか 1976, Odate and Maita 1988). 珪藻ブルームとメソ動物プランクトン現存量の増大のタイムラグは、カイアシ類にとって珪藻は必ずしも最善の餌でないこと (たとえば, Ban et al. 1997), ミクロ動物プランクトンはカイアシ類の良い餌であるという条件を与えた生態系モデルで表現されている (磯田ほか 2000). メソ動物プランクトンの主要構成群であるカイアシ類のうち, *Acartia hudsonica* と *Pseudocalanus* sp. が *A. tamarense* を摂食しても全く問題ないことが報告されている (Turner and Anderson 1983). その一方で, *A. hudsonica* と *Pseudocalanus* sp. に非食・再生産不良・生残率悪化などの悪影響があったという報告もある (Ives 1985, 1987). Liu and Wang (2002) は *Calanus sinicus* と *Paracalanus crassirostris* が有毒株・無毒株に関わらず *A. tamarense* を捕食することを報告している. Abe et al. (2013) は *Neocalanus cristatus*, *N. flemingeri* および *Eucalanus bungii* のうち, *Neocalanus* 2 種については *A. tamarense* を食べ, その同化効率は珪藻類と同等であることを報告している. 珪藻ブルーム後の 4~7 月に噴火湾で優占するカイアシ類は *Acartia longiremis*, *Calanus plumchrus*, *Pseudocalanus elongatus* などであり, *P. elongatus* は 11~6 月に出現し, 特に 5 月には全カイアシ類個体数の 72 % を占める (西浜ほか 1976). *Pseudocalanus*, *Acartia* および *Calanus* 等が *A. tamarense* を捕食しているならば, 5 月のカイアシ類の増加はその他の減少要因の一つとなる可能性がある.

A. tamarense は遊泳によって鉛直移動 (上昇, 沈降) を行い, 深層にある N-プールを利用することができる (MacIntyre et al. 1997). Fauchot et al. (2005) はカナダの St. Lawrence estuary において本種が夜間に窒素濃度が高い深層 (>10 m)

まで移動することによって窒素要求を満たし、日中は光合成に好適な光条件の深度（4～6 m）に集まることを観察した．噴火湾の八雲定点では珪藻ブルームによって水柱全体の栄養塩が枯渇するので（宮園・嶋田 2000），海底直上付近まで沈降しないと N-プールには辿りつけない．*A. tamarense* の遊泳速度は水温 8～16°C の間で $100\sim 200\ \mu\text{m s}^{-1}$ であり（Lewis et al. 2006），水深 35 m の水柱を海底直上から海表面まで移動するには 2～4 日を要するので，*A. tamarense* にとっては昼夜移動のレベルを超え，窒素要求を満たすための鉛直移動はリスクの高い行動と思われる．従って，前述した DON の利用や Mixotrophy，あるいは Phagotrophy に依存したほうが得策かもしれないが，これらについては今後の研究が待たれる．一方，日周鉛直移動による好適光深度への集合は，その他の増加促進要因の一つとして有力であろう．

フィールド調査から得られた，*A. tamarense* の生息適水温の上限が 10～16°C（西浜ほか 1980，嶋田 2000，第 2 章第 1 節）であることと，培養実験結果により得られた増殖適水温が 10～18°C（それ以上の可能性あり）であることのずれについては，第 2 章第 2 節で論じたとおり，活発なシスト形成の目安が水温 14°C 付近にある（Nagai et al. 2004）点を考慮すれば，おおよそ 14°C を超えた後の栄養細胞の消失を矛盾なく説明できる．噴火湾における大規模ブルームの消失は水柱平均水温がおおむね 14°C を超えたのちの活発なシスト形成によってもたらされ，このことが 6～7 月におけるその他の最重要な減少要因と考えられる．

ブルーム成功年における本種の栄養細胞の増減のうち，シスト発芽と栄養細胞の増殖以外のその他要因について月別に整理した（Table 6）．2 月は鉛直安定度が低いため，時化などの影響を受けやすい上に珪藻との競争による増殖抑制が考えられる．増加要因としては，他エリアからの栄養細胞の移入が考えられた．3 月のその他要因は減少要因のみで，珪藻ブルームに伴うミクロ動物プランクトンによる捕食や珪藻との競争が考えられた．また，Table 5 に示したとおり，2，3 月の本種の増殖速度は極めて遅く，個体群の維持や増大にとって過酷な環境であることが示唆される．4 月のその他要因のうち，増加要因としては移入のほか，栄養塩環境や餌となる微小生物の増加による混合栄養性が，減少要因としてはミクロおよびメソ動物プランクトンの増加による捕食圧が考えられた．5～6 月および 7 月（15～30 m 層）は年によって成層の発達状況が異なり，その他要因として，混合栄養や成層発達による集積が増加要因，栄養塩枯渇と

Table 6. Monthly pattern of increase (↑) or decrease (↓) in the vegetative cell numbers of *A. tamarensis* affected by the other factors in the large bloom years and assumed factors with major events in physical, chemical and biological components.

Month	Large Bloom Years of <i>A. tamarensis</i>			Assumed factors		Water Mass ¹⁾		DIN ²⁾		Diatoms ³⁾		Dino-flagellates ³⁾		A. <i>tamarensis</i> ⁴⁾		Microzooplankton ⁵⁾		Mesozooplankton ⁶⁾	
	1984	1989	1994	Increase	Decrease	W.C.S.	WFW	Conc.	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass	Biomass
February	↑		↓	Intrusion	Storm competition with diatoms	WFW unstabilized		rich	increase	low	absent	low		low		low		low	
March	↓	↓	↓		Predation competition with diatoms	OW stabilizing		exhausting	bloom	bloom	inoculate	increase		low		low		low	
April	↑	↓	↑	Intrusion, DON increase, Heterotrophic growth	Predation	OW stabilized		exhausted	post bloom	post bloom	low	max		increase		max		increase	
May	↑ (0-5m), ↓ (10-30m)	↓	↓	Heterotrophic growth, Accumulation	Nutrient deficiency, Predation	SFW stabilized		exhausted	post bloom	post bloom	increase	max		max		max		max	
June	↓ (0-5m), ↑ (10-30m)	↓ (0-10m), ↑ (15-30m)	↓ (0-10m), ↑ (15-30m)	Heterotrophic growth, Accumulation	Nutrient deficiency, Predation, Cyst formation	SFW stabilized		exhausted	post bloom	post bloom	max	decrease		decrease		decrease		decrease	
July	↓ (0-10m), ↑ (15-30m)	↓ (0-10m), ↑ (15-30m)	↓	Heterotrophic growth, Accumulation	Nutrient deficiency, Predation, Cyst formation	SFW stabilized		exhausted	post bloom	post bloom	decrease	high		high		high		low	
August	↓	↓			Cyst formation	SFW stabilized		exhausted	post bloom	post bloom	absent	high		high		high		low	

remarks: W.C.S.- Water Column Stability, WFW-Winter Funka Bay Water, OW-Oyashio Water, SFW-Summer Funka Bay Water, DIN-Dissolved Inorganic Nitrogen, Conc.-Concentration.

Reference: 1) Ohtani & Kido 1980, 2) Yoshimura et al. 1998, 3) Shimada 2000, 4) present study, 5) Dohi 1982, Ban 2000, 6) Nishihama et al. 1976, Odate & Maita 1988.

ミクロおよびメソ動物プランクトンによる捕食圧が減少要因であろう。7月(10 m 以浅)と8月のその他要因は減少要因が共通しており、上述のとおりシスト形成によると考えることができた。

シストの発芽が *A. tamarense* ブルームの形成に果たす役割として、大きく2つが考えられる。1つは1~4月におけるシストの発芽である。この時期の発芽率は非常に低いため、植物プランクトン群集の中の構成割合は小さいものの、水柱への栄養細胞の添加は本種の初期個体群を形成させるために重要な役割を果たしていると考えられる。2つめは6月の活発な発芽である。この時期の発芽率は温度が高ければ10~20 % 10-days⁻¹ 程度の比較的高い発芽率を与え、水柱への栄養細胞の補給によってブルームの拡大に少なからず貢献していると考えられる(1989年と1994年の6月)。しかし、現場でのシストの発芽をコントロールする要因は水温以外にもあり、実測することが望ましい(Ishikawa et al. 1995, 2007)。これらは今後の検討課題である。

2-4-3-3 *A. tamarense* ブルームの発生機構とシストの役割

以上のように、実験室で得られた栄養細胞の増殖特性とシストの発芽特性にその他要因を加えることで、初期個体群形成からブルーム消失までの動態におけるシストの役割を推定することができた。本章で得られた知見のうち、温度との関係については以下のようにまとめられた (Fig. 34)。

A: 現場の水温は水柱平均水温で2~18°Cの間を季節的に変動するが、沿岸の海底直上水温は2~12°Cの範囲の季節変動をする。

B: *A. tamarense* はシスト形成とシスト発芽のプロセスを有する生活環により、休眠シスト期と栄養細胞期を繰り返す。

C: シストは内因性休眠期を持つことにより発芽期が1~6月に調節されている。

D: 栄養細胞の増殖に適するのは水温5°Cを越える5月以降であり、初期個体群形成期の1~4月は増殖にとって水温は低い環境である。

E: シストの発芽に適した temperature window は7~18°C (上限水温はさらに高い可能性あり) である。シスト発芽の可能な温度範囲は3~7°C である。

栄養細胞期の水温環境は、栄養細胞期の後半(6,7月)にようやく増殖適水温に達する。大規模ブルームが6,7月にピークを形成するのは増殖適水温期であることが一つの理由となる。しかし、内因性休眠により規定されているシスト発芽期(2~6月)の水温は temperature window より低いが発芽可能な環境である。

渦鞭毛藻のブルームにおいて、シストの同調的な大量発芽がそれに続くブルームのきっかけとなるというシードバンク仮説 (Steidinger 1975, Wall 1975, Anderson and Morel 1979, Anderson and Keafer 1985) は魅力的な戦略と考えられるが、いくつかの研究では発芽生理とブルームにおける発芽の役割は種による違いが非常に大きいことが示されている (e.g. Anderson et al. 1983, Pfiester and Anderson 1987, 今井 1990, Ishikawa and Taniguchi 1996, Anderson 1998, Rengefors 1998). 多くの研究ではごく小規模な発芽細胞群でもブルーム形成にとって十分であり、その小さな初期個体群が栄養細胞の増殖に好適な環境に遭遇することによって、ブルームが形成されると強調されている (Heaney et al. 1983, 今井 1990, 今井ほか 1993, Ishikawa and Taniguchi 1996, Anderson 1998). 噴火湾の *A. tamarense* ブルームにおいても、1984 年の大規模ブルームのようにシストの発芽の初期個体群形成への貢献が検出できないほど小規模であっても、シストの発芽は水柱内に栄養細胞を接種すること自体に重要な役割があり、ブルーム形成には接種されて生じた初期個体群の増殖が必須と考えられる。

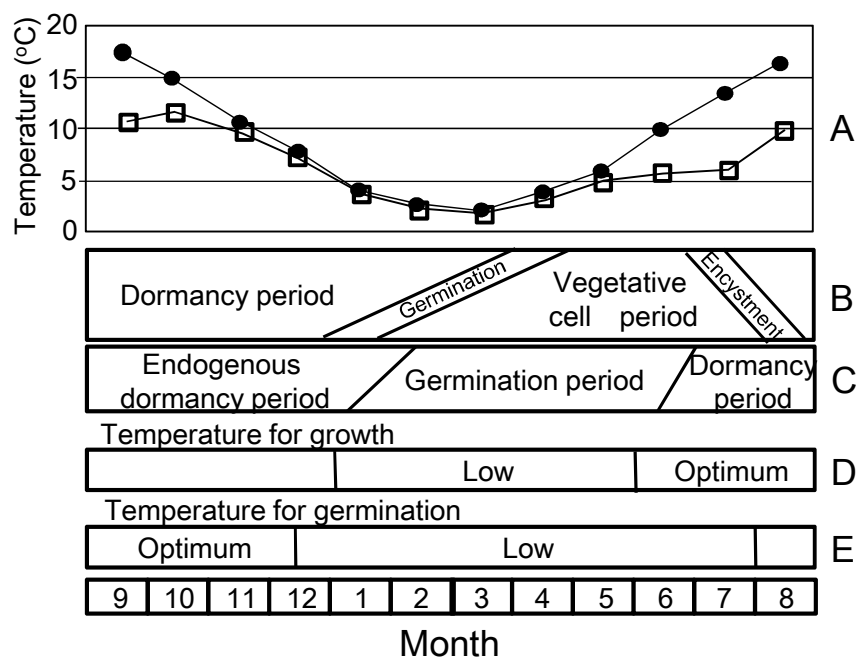


Fig. 34. Schematic diagrams of seasonal change in averaged water temperature (average of 0 – 30 m water column: ●, bottom: □) from 1982 to 2012 at Yakumo and Otoshibe stations (A), life cycle stage of *A. tamarense* (B), physiological phase of the cyst (C), temperature conditions for growth of the vegetative cells (D), and temperature conditions for the cyst germination (E).

第3章 噴火湾における *Alexandrium tamarense* の ブルーム発生履歴の評価

第1節 海底堆積物中のシストの鉛直分布による *A. tamarense* ブルーム発生履歴の評価

3-1-1 緒言

1975年から始まった *A. tamarense* の発生量および麻痺性貝毒による二枚貝毒化のモニタリングの結果によると、噴火湾における本種ブルームと麻痺性貝毒の発生傾向は10年程度の周期で交替している可能性が示唆されている(工藤ほか 2005)。モニタリング実施以前の *A. tamarense* ブルームと麻痺性貝毒の発生年代と非発生年代がわかれば、将来の麻痺性貝毒発生への対策や対応の重要性を噴火湾の漁業関係者に周知することができる。

北海道沿岸では、日本海側を除くオホーツク海側および太平洋側に広く *Alexandrium* spp. のシストが分布し、とくに、噴火湾海域の海底堆積物中には高い密度でシストが存在する(Shimada and Miyazono 2005)。海底堆積物中の *Alexandrium* spp.シストの地理的分布は、潜在的な麻痺性貝毒発生エリアであることを示す(Shimada and Miyazono 2005)とともに、堆積物中のシストの鉛直分布はその海域における本種の発生の履歴を反映することから、詳細な知見は大変有用である(Dale et al. 1993)。1992年に初めて *Alexandrium* spp. ブルーム由来の麻痺性貝毒による養殖カキの毒化が発生した広島湾では、海底堆積物における *A. tamarense* および *A. catenella* のシストが表層付近に多く分布していることから、比較的近年になってシストが補給されたことを報じている(山口ほか 1995)。噴火湾の沿岸部で得られた堆積物コアにおいて、*Alexandrium* spp.のシスト密度が表層以外に示した極大層は、過去に本種が繁茂した可能性を示すものである(第2章第3節)。しかし、観察されたシスト密度の極大が過去の *Alexandrium* の発生年代の履歴であるかどうかについては、使用したコアの年代に関する精査が必要である。一般に堆積物には堆積層の逆転や攪乱が生じることがあるため、使用した海底堆積物コアの堆積状況についての解析が必要である。また、シストの鉛直分布パターンはサンプリング操作に影響されることがあるので(Anderson et al. 1982)、ある海域で堆積物中のシストの鉛直分布に過去の *Alexandrium* の発生履歴を求めるには、複数地点のコアサンプルに同様の極大層の存在を確認する必要がある。

噴火湾における地質研究は古くから精力的に行われてきた(たとえば、大嶋・横田 1985)。堆積速度の推定には、Pb-210法が一般的に用いられる(松本・富樫 1980, 村山ほか 1998, 本多ほか 2002, 2003)。一方、噴火湾は周囲を駒ヶ岳、

有珠山，昭和新山等の活火山に囲まれ，現在まで幾度となく火山噴火の影響を受けてきたため，噴火湾の堆積速度推定には Pb-210 法の他，岩相記載から噴火の履歴を判別し推定する方法も利用できる（松本・富樫 1980）．火山灰法による年代決定の長所は，火山灰層の上面と下面を同時期面（当時の地表あるいは海底面）として広域にわたって認定できることである．他方，火山灰層の再移動による欠損や移入によって形成された層を誤って同定する可能性があるため，火山灰層の積層構造や重なる順序についての検討が必要である．

本節では，噴火湾の沖合部で得た複数地点の堆積物コアにおける *Alexandrium* spp. のシストの鉛直分布調査と堆積物コアの岩相記載を精密に行い，噴火湾で過去に *A. tamarense* の大規模ブルームが発生していたことを明らかにした．

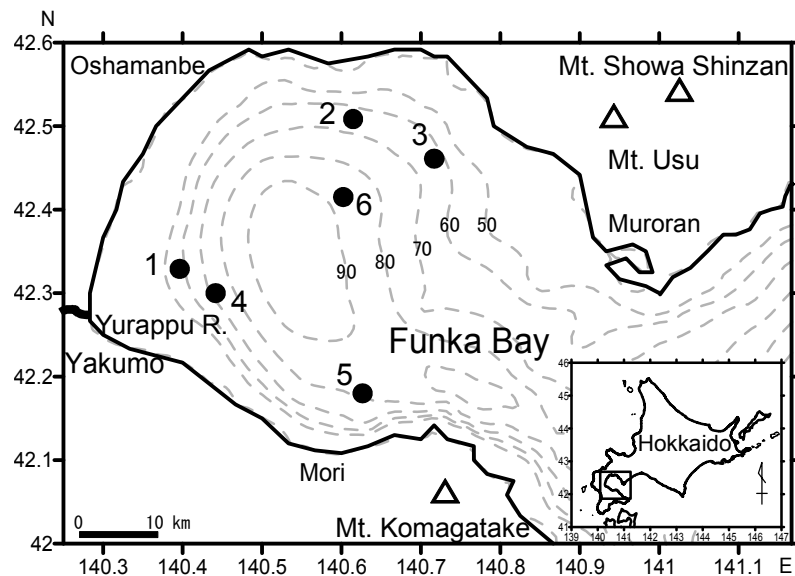


Fig. 35. Location of the sampling stations in Funka Bay (●). Dotted lines indicate bottom depth (m).

3-1-2 材料と方法

3-1-2-1 コアサンプルの採集

コアサンプルの採集は 1999 年 7 月に函館水産試験場調査船，金星丸を使用して，噴火湾内の 6 地点で行った (Fig. 35)．調査地点の水深は Stn. 1 が 46 m, Stns. 2, 3, 4 が約 70 m および Stns. 5, 6 が 85～87 m であった．コアサンプルは不攪乱採泥器（離合社，東京）を用いて各地点で 1 本を採集し，アクリルコアの底蓋をして，直上水をシリコンチューブにより除去したのち，上蓋をして垂直を保ち，実験室に持ち帰った．分析まで 5°C の冷蔵庫内で保存した．

3-1-2-2 岩相記載

A 肉眼および軟エックス線写真によるコアの観察

長さ 25 cm 幅 5 cm 厚さ 1 cm の透明アクリルケースに、堆積構造を乱さぬよう分取した試料を軟エックス線写真撮影装置 (SOFTEX CM-2 型) によって撮影した。

B 乾燥かさ密度

先端を切除したプラスチック注射筒 (直径 29 mm) を、堆積物の構造が変形しないよう差し込み、抜き出した後、押し出しながら 1 cm 間隔にカットした。カットした試料に対して湿重量および乾燥後 (105°C, 恒量となるまで乾燥) 重量を計測した。得られた測定値をもとに、間隙水中の塩分を 3 % と仮定し、乾燥試料に含有される塩分量を補正した乾燥かさ密度および積算重量を算出した。

C 帯磁率

帯磁率の値は、磁性鉱物の量によって異なり、鉱物の種類や粒径にも大きく依存する。火山灰の混入や、粒径の変化などの堆積状況の変化を反映した記録を堆積物中に残しているため、同時性のイベントに対応する層序をもとに柱状試料間の対比に利用される。このような利点を活用するため、各コアの帯磁率を測定した。初期帯磁率は、乾燥かさ密度測定にもちいた試料に対して、Bartington 製 MS2 システムを使用して測定した。計測値は試料の質量で除した質量帯磁率として規格化した。

D 鉱物組成および軽石の観察

高い帯磁率を示した層準を特定したのち、シスト計数用に 2.5 cm 間隔にスライスした試料を用いて、各層準の鉱物組成および軽石の観察を行なった。メッシュサイズ 63~125 μm に篩別した粒子をエンテランニューによって封入したスライドガラスを作成し、偏向顕微鏡下で計数した。また、火山軽石については、粒径分析後の直径 0.5 mm 以上の粒子を肉眼で観察した。

3-1-2-3 シストサンプル処理および計数

コアサンプルを表面からは 0~1 cm, それより下層では 2.5 cm 毎にカットし、深度別サンプルを調製した。蒸留水に懸濁させたおよそ 0.3~0.5 g の湿潤堆積物はナイロンメッシュを張った篩を用いて、100 μm 以上の粒子を除去し、10 μm 目合いの篩で受けた。次に超音波処理しながら蒸留水で洗い、目合いを抜ける

粒子をできるだけ除去して、最終的に 10～100 μm の画分を 10 ml 試験管に集めた。これをグルタルアルデヒドによる固定およびメタノールによるクロロフィル除去を行った後、プリムリン染色を施し (Yamaguchi et al. 1995), 最終的に 5 ml に定容し, 落射蛍光装置付倒立顕微鏡 (OLYMPUS IX71) 下でシストを計数した。噴火湾では, 1975 年以降に発生した麻痺性貝毒のうち *A. catenella* のブルームを原因とするものが 1988 年に記録されている (林 1989, 1990, Noguchi et al. 1990)。*A. tamarense* と *A. catenella* のシストは外形観察からは区別することができない (福代 2000, Itakura and Yamaguchi 2005) ことから, 長楕円型をした *A. tamarense*-タイプのシストを本研究では *Alexandrium* spp.シストとして計数した。しかし, 本章第 2 節で述べるとおり, 噴火湾における *Alexandrium* spp.のシストは実質的に *A. tamarense* とみなして良いという結果から, ここでは計数したシストを *A. tamarense* として扱う。また, 計数したシストは内容物を含む生きたシストのみであり, 空シストは除外した。各資料について 3～5 回の計数を行い, その平均値から最終的に湿潤堆積物 1 g あたりのシスト数を得た。層別サンプルのシスト密度は 2 つのサブサンプルの平均値を用いた。各層別の湿重量ベースのシスト密度はコアサンプルの含有かさ密度と積算重量を考慮し, 下記の (27) 式で補正した堆積物の乾燥重量あたりのシスト密度に換算した。

$$D_{\text{dry}} = D_{\text{wet}} \times (1 - (\text{WC}_w \times 1.03))^{-1} \dots\dots\dots (27)$$

D_{dry} (cysts g^{-1} dry sediment): 乾燥堆積物あたりのシスト密度,

D_{wet} (cysts g^{-1} wet sediment): 湿潤堆積物あたりのシスト密度,

WC_w (%): 含水率, 1.03: 海水の比重。

3-1-3 結果

3-1-3-1 岩相記載

A 肉眼および軟エックス線写真によるコアの観察

コアの肉眼観察の結果, 試料分取後の乾燥による収縮に伴う割れ目があるほかは, 採集後の転倒や振動による液状化によってできる堆積物の流動痕跡や小断層は認められなかった (Fig. 36)。Stns. 1 および 5 を除いた柱状試料は, 生物擾乱を受けて鉛直的に均質化しており, 特にコア 2, 4, 6 には空洞の維持された底生生物の棲管が認められた。これらはコア採取時のごく最近までベントスが生息していたことを示す。しかしながら, いずれのコアにも堆積物中に明瞭な不連続面は認められなかった。Stn. 1 は, 中部と下部に軽石が層状に配列しており, 中部と下部との砂粒層の間には, 平行葉理が濃淡のわずかな変化とし

て認められた. Stn. 5 には, 深度 8 cm 付近に砂粒の混入が認められたほか, 下部と中部に濃淡の境界が認められた. 暗色の (X 線透過率の低い) 層準では軽石および砂粒を多数認め, 下部には粗粒の粒子からなる層が存在した.

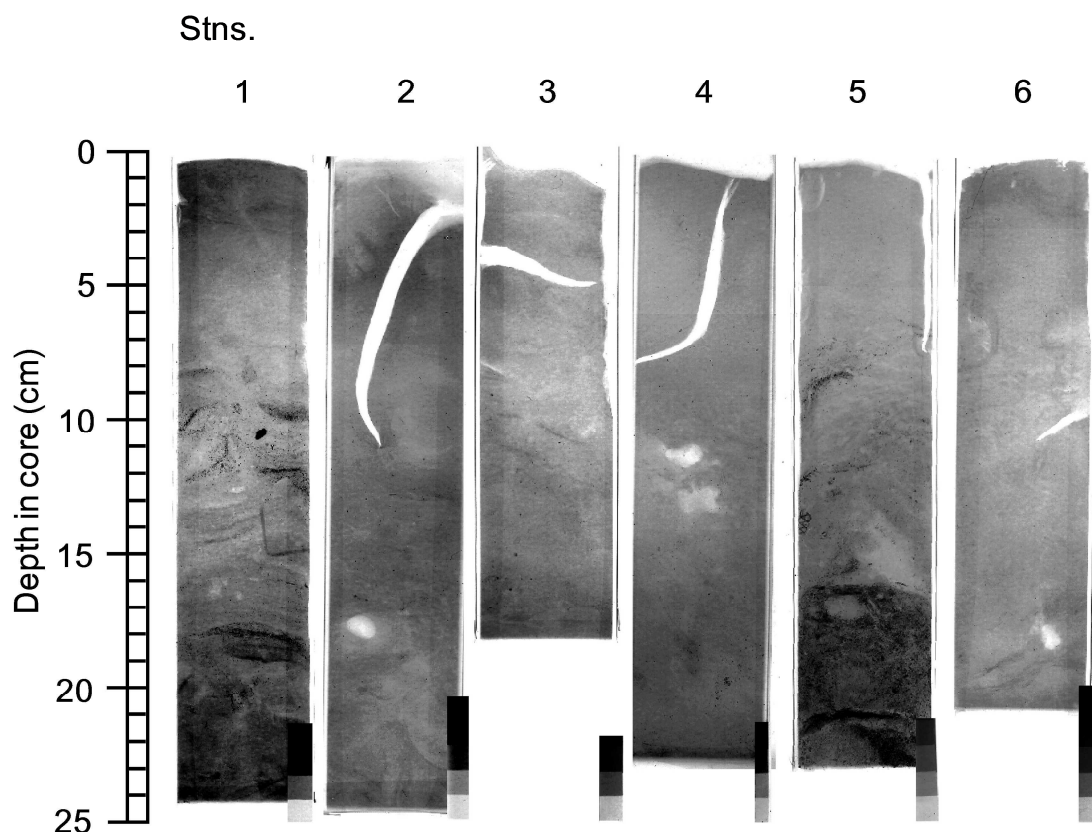


Fig. 36. X-ray photographs of vertical profiles of sediment cores collected in Funka Bay.

B 帯磁率

すべてのコアを通じて帯磁率は, $5 \sim 107 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$ の範囲にあった (Fig. 37). Stn. 1 のコアの深度 9~13 cm には, 鋭い 2 つのピーク (36×10^{-7} および $54 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$) が認められた. また, ピーク以外の帯磁率のバックグラウンド値 (約 $18 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$) は 6 本のコアの中では最も高かった. Stn. 2 のコアには明瞭な帯磁率のピークがなく, 深度 10 cm に比較的高い値 ($15 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$) がみられた. Stn. 3 のコアには下部に不明瞭な帯磁率ピークが存在し, 帯磁率は上方に向かって緩やかに減少した. Stn. 4 のコアには, 上方にむかって緩く減少する鋸歯状のピークが存在し, 深度 22~23 cm において最大値 ($18 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$) が観察された. Stn. 5 のコアの下部には, 帯磁率の高い層準が存在し, 2 つの明瞭なピーク (コア深度 22~24 cm : 107×10^{-7} , 19~20 cm : $64 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$) が認め

られた。コア深度 8~9 cm には、上下の層準に比べやや高い緩やかな帯磁率ピークがあった。Stn. 6 のコアは明瞭な帯磁率ピークがなく、最大値は $11 \times 10^{-7} \text{ emu g}^{-1}$ であった。

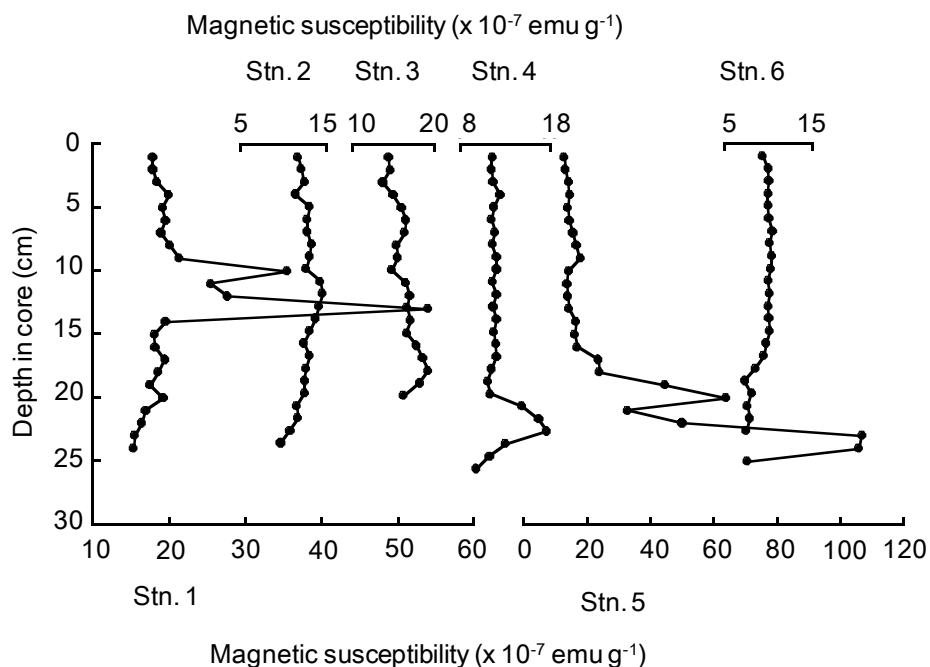


Fig. 37. Vertical profiles of magnetic susceptibility in sediment cores collected in Funka Bay.

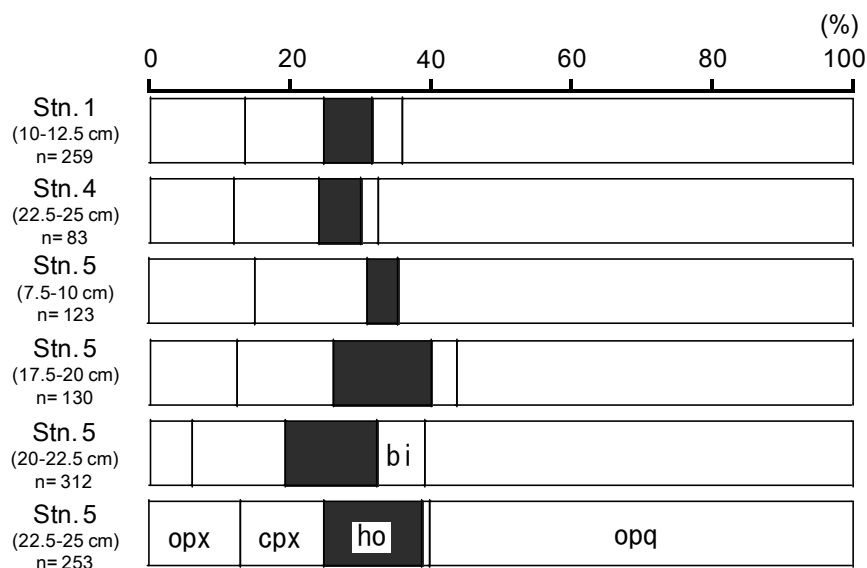


Fig. 38. The petrographic property of high susceptibility layer (indicated in parentheses) in sediment cores from Stns. 1, 4 and 5. opx: orthophroxene, cpx: clinophroxene, ho: hornblende, bi: biotite, opq: opaque minerals, n: number of measured particles.

C 鉱物組成および軽石の観察

帯磁率の高かった Stn. 1 の 10~12.5 cm, Stn. 4 の 22.5~25 cm, および Stn. 5 の 7.5~10, 17.5~20, 20~22.5, 22.5~25 cm の各層準について鉱物組成に関する詳細な観察を行った. Stn. 5 の 17.5~25 cm の層準では, 重鉱物中に占める角閃石 (ho) の割合が他の層準に比べて高かった (Fig. 38). 軽石の目視観察では, Stn. 1 の層準には繊維状の白色軽石と灰色の斑晶鉱物を含む軽石が混在し, いずれも円磨されていた. Stn. 4 の層準に含まれた軽石は他のコアに比較して細粒であり, 円磨された白色軽石が灰色の軽石に対して優勢であった. Stn. 5 の層準では, 白色で繊維状の軽石と灰色を帯びた表面がでこぼこした軽石に区分でき, 白色かつ繊維状の軽石が多かった.

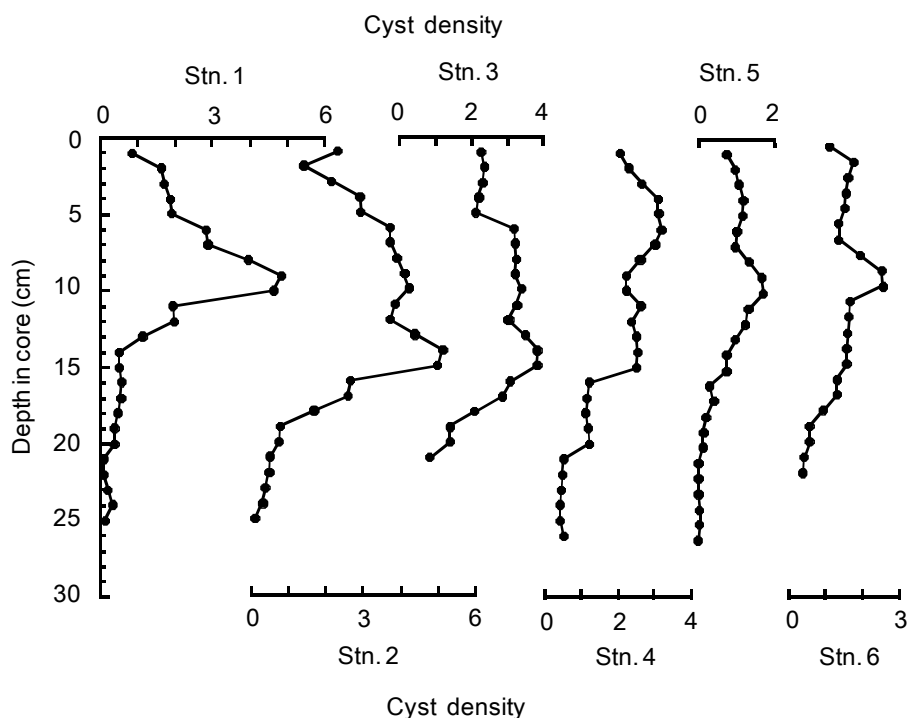


Fig. 39. Vertical profiles of *A. tamarensis* cyst density ($\times 10^3$ cysts g^{-1} dry sediment) in sediment cores collected in Funka Bay.

3-1-3-2 シストの堆積物中の鉛直分布

それぞれの地点のコアには, シスト密度の極大層が存在した (Fig. 39). 最大密度を示した層は Stn. 4 では 6 cm と浅かったが, Stns. 1, 5, 6 では 9~10 cm 付近に, Stns. 2, 3 では 14~15 cm 付近にみられた. 表面 1 cm 層のシスト密度に比べて 2~5 cm 層のシスト密度が高いことは Stn. 2 を除く 5 つのコアに共通していた. 岩相観察で最も堆積状態が単純であった Stn. 5 では, 7 cm 層のシスト

密度の極小を挟み、9～10 cm と 5 cm 層にシスト密度の極大が認められた。また、コアの 20 cm より浅い層にシストが観察された。

3-1-4 考察

3-1-4-1 コアの連続性

Stn.1 のコアに認められた葉理をともなう堆積構造が保存されるためには、構造を乱す底生動物の存在がなかったか、あるいは生物擾乱が及ぶ範囲を超えて堆積物が厚く堆積したといった履歴が必要である。噴火湾ではマクロベントスが全湾に分布しており（大嶋ほか 1979, 水産庁 1980 など）、このコアの上部および他のコアが生物擾乱を受けていることから、局所的に底棲生物の活動が欠如したことによって保存された葉理構造とは考えにくい。他方、Stn. 1 は水深 46 m と比較的浅く、遊楽部川河口に近いという地理的特徴を持ち、帯磁率の高い層準の軽石が円磨されていたことから、一時的な堆積によって生物擾乱を受ける深度よりも深い部分が保存された堆積構造である可能性が高い。Stn. 5 のコアには、下部と中部に明瞭な境界が X 線写真の濃淡として認められた。この境界より下位は火山性碎屑粒子が多く含まれている火山灰層である。また、この境界より上位での帯磁率に著しい不連続性はないこと、近傍の柱状試料を扱った村山ほか（1998）の火山灰層の出現深度とほぼ一致することから連続的に堆積した堆積物であると判断された。また、Stns. 2, 3, 4, 6 においても、物理特性値について鉛直的に不連続な変化が認められなかったことから、Stn. 1 を除く 5 本のコアは連続的に堆積した堆積物であると判断された。

3-1-4-2 火山灰層の同定と年代モデル

Stn. 5 のコアは、下部の火山灰層が他のコアに認められない高い帯磁率を示し、火山灰層より上位は連続的に堆積していると判断された。そこで、このコアを用いた火山灰法による堆積年代推定を試みた。

噴火湾の近傍には、北海道駒ヶ岳、有珠山、昭和新山といった火山が存在し、最近では 2000 年に起こった有珠山の噴火の際には噴火湾に降灰が認められている（水産庁北海道区水産研究所ほか 2000）。噴火湾周辺に分布する過去の火山の噴出物は、噴火湾西部の八雲において、上位より有珠山 1663 年噴出物（Us-b）、駒ヶ岳 1640 年噴出物（Ko-d）、濁川テフラ（12,000 年前、柳井ほか 1992）が存在している（中村・平川 2004）。八雲で認められている上位 2 層の火山灰層は供給源からの経路を考慮すると、噴火湾の海底にも存在することが予測され、沈積後の火山灰が再移動することなく堆積物中に保存されていれば、

年代値を示す鍵層として期待できる. Stn. 5 のコアに認められた火山灰層は上記のうちのいずれかの火山灰で構成されていると考えられる.

有珠山および駒ヶ岳由来の火山灰はそれぞれ形態的な特徴を有し, Us-b (有珠 1663 年噴出軽石) は, 表面が摩耗されて丸みを帯びていることが多く, 斑晶はきはめて少なく, 白色の繊維状にのびたガラスからなる (北海道火山灰命名委員会 1979). また, 斑晶鉱物に角閃石を含む (町田・新井 1992). 他方の駒ヶ岳噴出軽石の特徴は, 表面はでこぼこしており, 紫蘇輝石, 普通輝石および斜長石の斑晶に富み, 石基は白色ガラスである (北海道火山灰命名委員会 1979). Stn. 5 の火山灰層は有珠山起源の軽石の特徴を有する白色かつ繊維状の軽石が優勢で, 角閃石を他の層準に比べ多く含んでいた. さらに, 駒ヶ岳由来の特徴を有する軽石が混在したことから, この層準より下位に駒ヶ岳由来の火山灰層が存在すると判断できる. これらの有珠山噴出物と駒ヶ岳噴出物との近接した層序関係は, 八雲で認められた Us-b と Ko-d の層序関係 (中村・平川 2004) と等しく, Stn. 5 の火山灰層は Us-b に対応する火山灰層であると推定できる.

Stn. 5 の最下部の帯磁率ピーク (22~24 cm) を Us-b (1663 年) に対比すると, 堆積速度は $0.035 \text{ g cm}^{-2} \text{ y}^{-1}$, 0.71 mm y^{-1} と算出された. この値は, 松本・富樫 (1980) の $0.06 \sim 0.12 \text{ g cm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ に比べて半分程度低いが, 村山ほか (1998) の 0.88 mm y^{-1} に近い. Stn. 5 では, Stn. 1 を除いた他のコアと比べて火山灰層がもっとも浅い地層に分布している. これは, Stn. 5 における堆積速度が他地点に比べて遅いことを示していることから, この堆積速度は妥当と判断した.

3-1-4-3 シストの堆積年代推定

Stn. 5 における堆積物中のシストの鉛直分布と火山灰法を適用した堆積速度から, 各層のシストの堆積年代を推定した (Fig. 40). 噴火湾では *A. tamarense* の細胞数の経年的変動から, *A. tamarense* ブルームの発生年代 (1985~1991 年) と非発生年代 (1992 年以降) の交替が認められている (工藤ほか 2005). ブルームの非発生年には表層堆積物中のシストが発芽により減少する一方, 沈降シストの供給がほとんどないために, 表面堆積物中のシスト密度は年々減少してゆくと考えられる. シスト密度の減少傾向が 1960~1980 年より 1980~1990 年の間で大きいことはこのこととよく一致している. シスト密度の極大は 1970 年と 1900 年頃に, シスト密度の極小は 1940 年頃に認められ, 30~50 年毎に *A.*

tamarensis のブルーム発生年代と非発生年代があったことを示唆する。

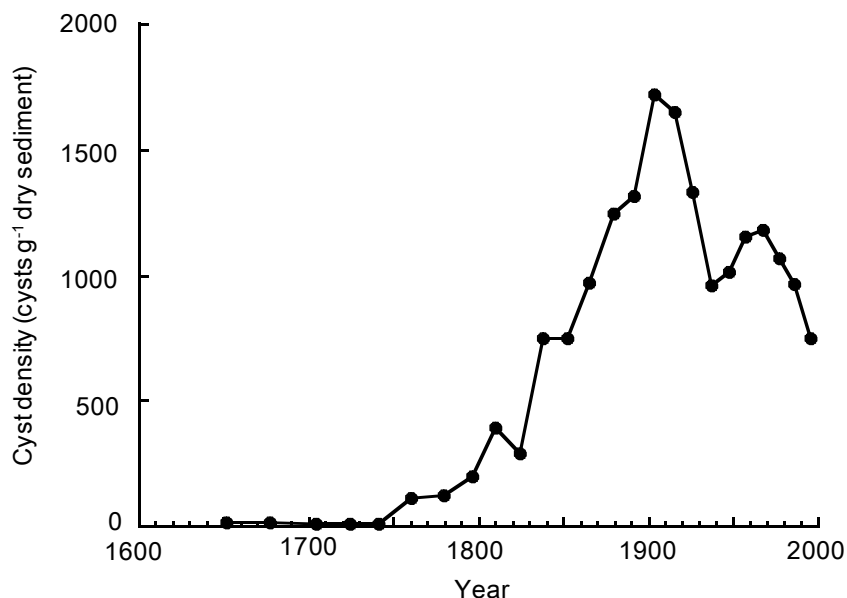


Fig. 40. Cyst density and estimated deposition time of *A. tamarensis* cysts at Stn. 5.

3-1-4-4 シスト密度極大相の形成とその解釈

Stn. 2 を除き、*A. tamarensis* のシスト密度は堆積物の表層中よりも 2～5 cm 深の層で高かった。このような表層以外の層での生シスト密度が高くなる現象は田辺湾や大船渡湾でも認められ、表層シストの発芽がシスト密度の減少の要因となる可能性が指摘されている（飯田私信）。しかしながら、渦鞭毛藻シストの堆積物中における鉛直分布のパターンは、シストが沈降する時期、採泥の季節、発芽、シストの死亡、ベントスの活動による底質の攪乱、潮汐による攪乱および底質の特性などが複雑に作用する（Anderson et al. 1982）。また、マクロベントスの存在が表面泥のシスト密度の減少に大きく影響することが知られている（辻野 2006）ため、要因の特定は困難である。

他方、各コアには深度 10 cm から 15 cm の間に顕著なシスト密度の極大が認められた。水深の深い地点である Stn. 5 と Stn. 6、ならびに比較的浅い地点の Stn. 2 と Stn. 3 ではそれぞれシストの極大層が一致しており、後者は前者より極大層が深い。岩相観察では、Stn. 5 を除く他のコアには火山灰による堆積年代推定が適用できなかったが、シストの極大層を同一時期と仮定すると、Stns. 5, 6 の堆積速度に対して、Stns. 2, 3 の堆積速度は 1.5 倍程度大きいこととなる。

噴火湾では、調査地点によって堆積速度が2倍程度異なる(松本・富樫 1980)ので、10~15 cm 層にみられたシスト密度の極大層が同じ年代の *A. tamarense* の大規模ブルームの履歴であった可能性は十分に考えられる。

第2節 噴火湾における *A. tamarense* シストの長期生存能力の評価

3-2-1 緒言

噴火湾における海底堆積物の表層には多くの *Alexandrium* spp. のシストが存在している(福代 1980, パスコ(株) 1991, 金子ほか 1993, 1994, 1995, Shimada and Miyazono 2005)。第2章第4節では、堆積物表層にあるシストが *A. tamarense* のブルームに果たす役割について論じた。第2章第3節では、沿岸部の堆積物中のシスト分布には表層以外に極大があることを示した(Fig. 22)。第3章第1節では、沖合部における堆積物中のシストの分布には、広く下層に極大が存在していることを示した(Fig. 39)。もし、これらのシストが活着しているならば、表層以下の層に高密度で分布するシスト群は噴火湾における有毒な *Alexandrium* のブルームのシードバンクとして機能する可能性がある。

海産渦鞭毛藻のシストの生残期間についてはいくつかの種について報告があり、その範囲は数ヶ月から100年以上と幅広い(Wall 1971, Dale 1983, Blackburn et al. 1989, Lundholm et al. 2011, Ribeiro et al. 2011)。*A. tamarense* のシストの場合、実験室内に保存していたシストの生残期間は1年(Anderson and Wall 1978)から13年(Nagai et al. 2007)という報告がある。他方、新鮮な堆積物中における生残期間は3年(McQuoid et al. 2002)から8年以上(Mizushima and Matsuoka 2004)までの報告がなされている。このように *A. tamarense* シストの生残期間に幅があるのは、実験室であれ天然環境であれ、シストの保存環境(たとえば、酸化還元電位、硫化水素、酸素濃度、温度、光強度、捕食者のベントス等)が異なるためと考えられる。

天然の海底堆積物中におけるシストの生残期間を理解するためには、シストの分析と堆積物コアの年代測定を同一コアについて同時に行う必要がある(Keafer et al. 1992)。噴火湾における堆積速度に関しては、Pb-210法を用いた測定結果の報告がある(松本・富樫 1980, 本多ほか 2002, 2003)。これまでに報告されている噴火湾の堆積速度を考慮すると、約30 cm 長のコアはおおよそ100年を遡ることができる。噴火湾における貝毒発生の主要な原因プランクトンは *A. tamarense* であるが、*A. catenella* が1988年秋にPSPによる貝の毒化の発生要因となったことがある(林 1989, 1990, Noguchi et al. 1990)。近年のPSP発生時には出現していないものの、例外的に堆積物中のシストに *A. catenella* が含まれている可能性はごく僅かであるが完全には否定できず、シスト分析ではこの2

種類を区別することが必要となる。

本節では、噴火湾の *Alexandrium* シストの鉛直分布と、異なる堆積年代の層から得たシストの発芽能力を評価する実験を行った。得られた結果は、これまでに報告されている海底堆積物中の *A. tamarense* シストの発芽能よりも相当に長い生残期間を持つ可能性を示した。異なる堆積層から得たシストの発芽成功率の結果は噴火湾における堆積物の表層以外に高密度に分布するシストの一部が現在でも有効なシードバンクとなりうることを明らかにした。

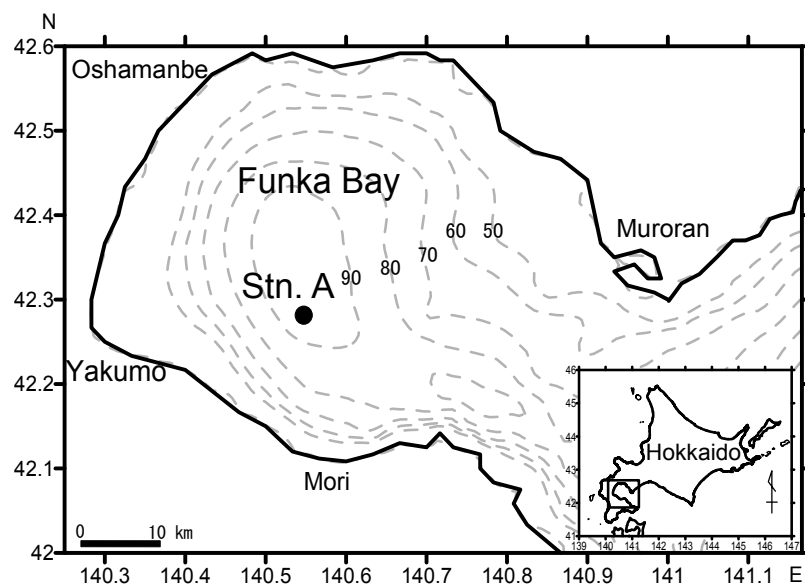


Fig. 41. Location of the sampling station (●) for the core sample collection. Dotted lines indicate bottom depth (m).

3-2-2 材料と方法

3-2-2-1 コアサンプルの採集

堆積物コアサンプルは噴火湾の最深部 (Stn. A: 42°20'N, 140°31'E) から採取された (Fig. 41). 噴火湾の沖合数カ所で得た堆積物コアには生物攪乱の証拠が観察されている (第3章第1節参照) が、調査地点付近では堆積物に葉理構造が保存されていることから、生物攪乱は小さい環境であると考えられる. 2009年2月に、マルチプルコアラー (離合社, ASHURA: GS-type corer, 内径 8.2 cm) を用いて、表層 32 cm のコアサンプルを得た. 第3章第1節で使用した不攪乱採泥器は、堆積物に対して垂直にサンプリングされていないケースがあるため、堆積物コアの年代測定に注意が必要であることを経験したため、より確実に鉛直コアが採取できる採泥器を使用した. コアサンプルは採取後直ちに、0~1 cm 深までは 0.5 cm 毎に、1~10 cm 深までは 1 cm 毎に、10~32 cm 深までは 2 cm

毎にスライスし層別に採取した。コアチューブから堆積物を押し出す際には、コアチューブと堆積物の摩擦で生じる鉛直的な汚染を防ぐため、コアサンプルの外周に沿って堆積物を薄く削り取り、スライス面も清浄なスパチュラを用いて採取した。以上のように各層試料の内側の部分のみをシストの実験用および堆積物年代測定用のサブサンプルとした。シスト実験用のサブサンプルはさらに2つに分割し、それぞれプラスチックチューブに収容した。これらのサブサンプルは船上では5°Cの暗条件で保存し、実験室では3°Cの暗条件で保存した。船上での日中光への試料の暴露は1時間以内にとどまるように迅速に処理した。

3-2-2-2 コアサンプルの堆積年代推定

各層の堆積物サンプルの一部は24時間以上60°Cで乾燥させた後、乳鉢と乳棒を用いてすり潰した。良くすり潰した堆積物粉末はスチレン製キューブ(28 cm³, 約20 gの試料用)に入れ、放射活性平衡を得るために3週間放置した。ガンマ線活性は超低バックグラウンドセミコンダクター検出器・多チャンネル分析機(SEIKO EG&G, MCA-7700)を用いて計測した。コアの年代特定はCRS(Constant Rate of Supply)モデルを用い、過剰鉛210をベースにして計算した(Appleby and Oldfield 1978)。

3-2-2-3 シストサンプルの処理および計数

それぞれの層から得た堆積物サンプルの一部(約1 g)をシストの計数に用いた。蒸留水に懸濁させた試料はナイロンメッシュを張った篩を用い、150 µm以上の粒子を除去して20 µm目合いの篩で受けた。次に超音波処理しながら蒸留水で洗い、目合いを抜ける粒子をできるだけ除去して、最終的に20~150 µmの画分を10 ml試験管に集めた。これをグルタルアルデヒドによる固定およびメタノールによるクロロフィルの除去を行い、プリムリンによって染色した後10 mlに定容した(Yamaguchi et al. 1995)。落射蛍光装置付き倒立顕微鏡(オリンパス, IC-70 with IX-FLA)を用いて、青励起光のもとでシストの観察を行った。シスト計数は3回繰り返し行い、結果は堆積物の乾燥重量1 g当たりの平均値±標準偏差として示した。

3-2-2-4 *Alexandrium* シストの分子同定

噴火湾の堆積物中には、*A. tamarense* のシストだけでなく *A. catenella* のシストも分布している可能性がある。しかし、形態学的に両者のシストを正確に区別することはできない(Itakura and Yamaguchi 2005)。したがって、発芽成功率を算するための試験に用いたシストの全てが *A. tamarense* であることを確認す

るために、各培養の上澄み液中に出現した栄養細胞と堆積物試料から得た *A. tamarense* タイプのシストについて、LAMP 法（Loop-mediated isothermal amplification method）による分子生物学的同定（Nagai and Itakura 2012）を行った。LAMP 法は DNA を恒温条件下で精確、迅速、簡易的に増幅する方法である（Notomi et al. 2000, Mori et al. 2001, Enosawa et al. 2003）。この方法では 60～65°C の恒温下で、標的遺伝子の配列から 6 つの領域を選んで組み合わせた 4 種類のプライマーを用いて、PCR（Polymerase Chain Reaction）を利用して標的遺伝子を増幅させる。標的遺伝子は反応混合物中に生じる標的 DNA 産生物の増加による濁度の増加を指標として検出できる。濁度は標的遺伝子の量に応じて増加するため、定量的な結果が得られる。発芽に成功したシストが *A. tamarense* であることを確かめるために、まず発芽成功率の培養実験終了後のマイクロプレートウェル中に残された栄養細胞をマイクロチューブ（1.5 ml 容）に収容し、遠心分離（10,000 rpm, 10 秒間）した。遠心処理後に上澄み液を除去したチューブを -40°C で凍結保存した。他方、実験に使用したシストが *A. tamarense* であることを確かめるため、7 層から得た堆積物サンプルをそれぞれ濾過海水中に懸濁させ、倒立顕微鏡下で *A. tamarense* タイプのシストを、毛細管を用いて直接ピックアップし、1 細胞につき 1 つのマイクロチューブ（1.5 ml 容）に収容した。各層の試料から 10～20 個のシストを分離し、-40°C で凍結保存した。マイクロチューブに収容したこれらのシストと発芽した栄養細胞について、*A. tamarense* と *A. catenella* のプライマーセットを用いた LAMP 法によって種の同定を行った（Nagai et al. 2012）。

3-2-2-5 *A. tamarense* シストの生残性

この実験は採泥して 2 ヶ月後の 2009 年 4 月中旬に実施された。各層から得た堆積物試料の一部を用いて、0～32 cm の全層から得たシストが発芽するか否かを確かめるために、バッチ培養試験を行った。堆積物サンプル約 2 g を採取し、超音波処理を施して、ナイロンメッシュを張った篩（目合 20 μm と 150 μm ）で得た画分 10 ml を 300 ml の三角フラスコに移し、150 ml の f/2 改培養液（Nagai et al. 2004）を満たした。この懸濁物を 12.5°C、白色蛍光灯で得た光強度 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12-hL:12-hD 明暗周期の条件下で 2～4 週間培養した。それぞれのバッチ培養の上澄み液を目合 20 μm の篩を通し、濃縮したサンプルから得た *Alexandrium* 属の栄養細胞（約 20 細胞）について、ただちに倒立顕微鏡による形態学的観察を行い、*A. tamarense* であることを確かめた。

3-2-2-6 *A. tamarense* シストの発芽成功率

この実験は 2009 年 5 月に実施された。7 つの層、すなわち 0~0.5, 1.0~2.0, 4.0~5.0, 12~14, 20~22, 28~30, 30~32 cm から得た堆積物サンプルを用いて、*A. tamarense* タイプのシストの発芽能を確認した。湿重量おおよそ 1~2 g の堆積物サンプルを濾過海水中に懸濁し、超音波処理の後、篩（目合 20 μm と 100 μm ）を用いて得た画分をふたたび濾過海水に懸濁させた。*A. tamarense* タイプのシストは毛細管を使って倒立顕微鏡下でピックアップした。堆積物サンプル毎に 8~20 個のシストをピックアップし、それぞれ 150 μl の濾過海水を満たした 48 ウェルのマイクロプレートに接種した。各ウェルあたりの接種数は最大 10 シストまでとした。接種されたシストは温度 10°C、蛍光灯で得た光強度 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、14-hL:10-hD 明暗周期の条件下で 1 ヶ月間培養した。マイクロプレートの各ウェルに接種したそれぞれのシストの位置を記録し、2 日後とその後は 1 週間毎に倒立顕微鏡下で直接観察した。このとき、空シストの数を発芽数として記録した。実験終了後、発芽しなかったシストは 3°C、暗所に保存し、後の顕微鏡観察に供された。

3-2-2-7 *A. tamarense* シストの顕微鏡観察

顕微鏡によるシストの観察は 2009 年 10 月に行った。0~0.5 cm 層と 30~32 cm 層から得た *A. tamarense* タイプのシストを観察した。0~0.5 cm 層のシストは温度 3°C、暗所で保存していた残りの堆積物サンプルからピックアップしたものである。30~32 cm 層のシストは発芽成功率を求める実験の中で、マイクロプレートのウェル中で発芽しなかった細胞を温度 3°C、暗所で保存していたものである。シストの外部形態、色調、原形質の形状および顆粒の存在と形態などを倒立顕微鏡下で観察し、顕微鏡画像を撮影した。

また、上記の観察の結果、30~32 cm 層のシストの形態は 0~0.5 cm 層のものとは明らかに異なっていたため、30~32 cm 層の形態を持つシストが表層に存在するかどうかを確認するために、噴火湾における表層シスト 100 個について、シスト壁の厚さと性状を観察した。使用した堆積物サンプルは伊達沖水深 40 m 地点で 2009 年 9 月に採集し、-20°C で凍結保存していたものである。解凍した表層堆積物を Ludox-HS40 に懸濁させ、遠心分離（500 $\times g$, 2 min）によって比重の重い鉱物粒子を除去したのち、篩を用いて得た 10~100 μm 画分をプリムリン染色し（Yamaguchi et al. 1995）、落射蛍光倒立顕微鏡下でシストを観察した。

3-2-3 結果

3-2-3-1 コアサンプルの堆積年代

堆積物コアの年代測定には CRS モデル（Appleby and Oldfield 1978）を適用

し、平均堆積速度は $0.249 \text{ g cm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ と見積った (Fig. 42). この値は松本・富樫 (1980) の見積もり ($0.06 \sim 0.02 \text{ g cm}^{-2} \text{ y}^{-1}$) よりも大きかった. 表層堆積物中の Pb-210 濃度は常に一定に保たれていることを仮定したモデル (CIC モデル) では堆積物中の Pb-210 放射能は常に深度とともに減少しなければならないが, CRS モデルでは堆積物の供給速度が常に一定であることを仮定しているため, より深い堆積物の放射能強度が逆転して高くなっている場合でも堆積速度を算出することができる. この堆積物コアでは, 6 cm より浅い層で堆積物年代の逆転が観察された. 噴火湾では刺し網, 底建て網漁業などが行われているが, 底曳き網, 桁網など海底攪乱を伴う漁業は行われていないので, これは生物攪乱の影響を示していると考えられる. しかしながら 6 cm より深い層では, 堆積年代は堆積物の深さに従って増大した. これは堆積物 6 cm より深い層では単純堆積をしていることを示している. 堆積速度 $0.249 \text{ g cm}^{-2} \text{ y}^{-1}$ は 0.58 cm y^{-1} に相当し, 堆積物が 6 cm 堆積するには約 10 年が必要であることが分かった. そして, 堆積物表層付近ではおよそ 10 年間は生物攪乱による均質化が起こっているが, それより深い堆積層では鉛直攪乱はないこと, 32 cm 層は 1903 ± 10 年 (106 ± 10 年前) に堆積したと見積もられた.

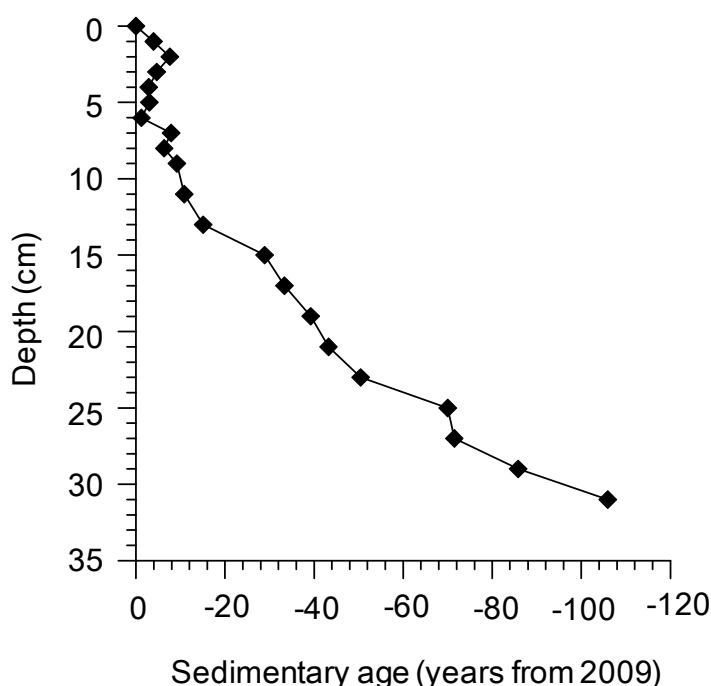


Fig. 42. Calculated sedimentary age based on ^{210}Pb dating (CRS) of the core collected from Stn. A in Funka Bay.

3-2-3-2 *A. tamarense* シストの堆積物中の鉛直分布

A. tamarense タイプシストは 0~32 cm 層すべての層の堆積物から検出された (Fig. 43). シストの堆積物中の鉛直分布は単峰型のピークを示した. シスト密度のピークは 22 cm 層に見出され, 1399 ± 295 (平均 $\pm$ SD) cysts g⁻¹ dry sediment であった. シスト密度は 22 cm 層から 7 cm 層まで急激に減少した. 堆積物コアの年代測定では 22 cm 層は 1960 ± 10 年に堆積したものである. 表面から 6 cm 層まではシスト密度がほぼ一定であり, その密度は $83 \sim 453$ (262 ± 154 , 平均 $\pm$ SD) cysts g⁻¹ dry sediment であった. しかし, 0~6 cm 層の間には 3 cm 層に小さなピークが認められた.

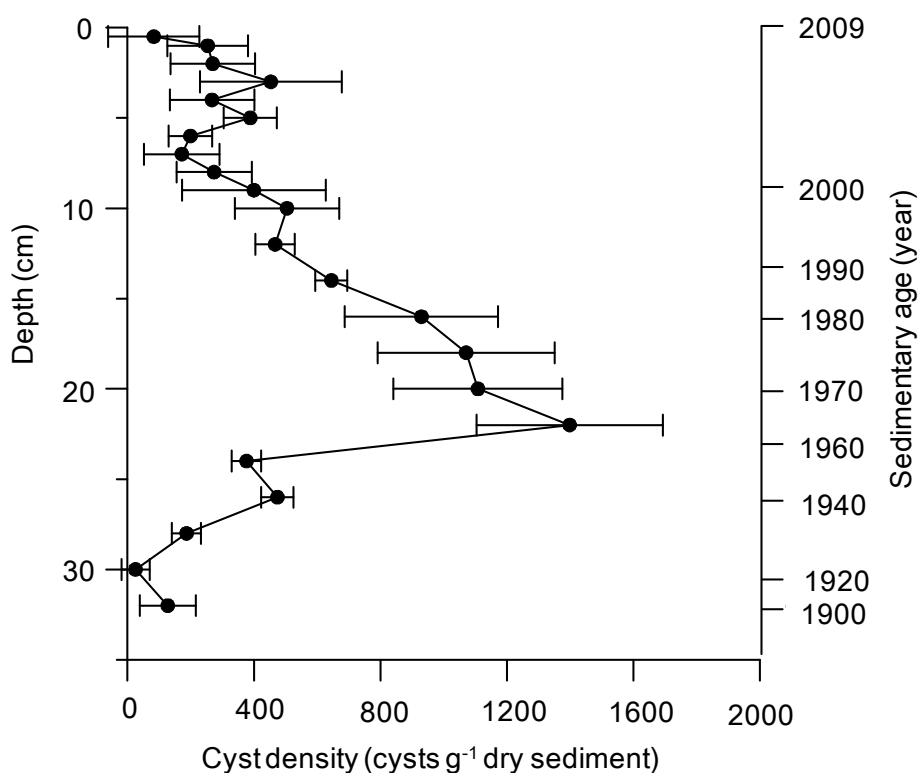


Fig. 43. Vertical distribution of *A. tamarense*-like cysts at Stn. A in Funka Bay. Plot indicates the average of triplicate counts (closed circle) and error bars indicate the standard deviations.

3-2-3-3 *A. tamarense* シストの発芽能

全ての層から得た堆積物試料を培養した後の培養上澄みには *A. tamarense* の栄養細胞が観察された (Table 7). これらの結果はすべての層に分布する *A. tamarense* のシスト群の一部は, それが 106 ± 10 年前に堆積した堆積物中のものであっても生きており, 発芽活性を維持していることを明確に示している.

Table 7. Confirmation of vegetative cells of *A. tamarens* appeared after these germination of cysts in supernatant of batch culture of different depth sediment from Funka Bay.

Layer depth (cm)	Detection of <i>A. tamarens</i> cells
0-0.5	○
0.5-1	○
1-2	○
2-3	○
3-4	○
4-5	○
5-6	○
6-7	○
7-8	○
8-9	○
9-10	○
10-12	○
12-14	○
14-16	○
16-18	○
18-20	○
20-22	○
22-24	○
24-26	○
26-28	○
28-30	○
30-32	○

Open circle indicate that vegetative cells of *A. tamarens* were confirmed in supernatant of batch culture of the sediment.

3-2-3-4 *A. tamarens* シストの発芽成功率

培養開始後、最も早くシストの発芽が観察されたのは培養 2 日目、0～0.5 cm 層のシストであった (Fig. 44). 発芽成功率はおおよそ 20 %であった. 培養 10 日目には、シストの発芽は 1～2, 5～6, 12～14, 20～22 および 28～30 cm 層の実験区で確認されたが、30～32 cm 層の区では発芽は認められなかった. 発芽成功率は培養 20 日目に全ての実験区で飽和した. 飽和発芽成功率は 0～6 cm 層の区で 77.8～100 %, 12～32 cm 層の系では 0～34 %であり、海底表面に近い層のシストの発芽率は深い層のものに比べて明らかに高く、堆積物深度 (X) と発芽成功率 (Y) の間には以下の式で示されるような強い負の相関が認められた.

$$Y = -3.034 X + 92.4 \quad (n = 7, r = 0.97, P < 0.001) \quad (\text{Fig. 45})$$

この関係式は保存期間 (X) と発芽成功率 (Y) の関係式に置換することができた.

$$Y = 100 \exp(-0.042 X) \quad (n = 7, r = 0.939, p < 0.001) \quad (\text{Fig. 46})$$

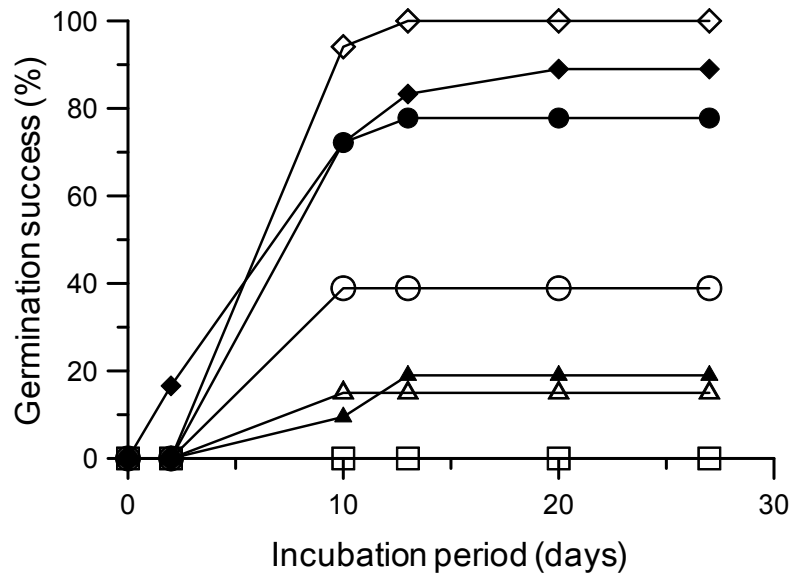


Fig. 44. Integrated germination success (%) of *A. tamarensis* cysts from seven depth layers (◆: 0-0.5 cm, ◇: 1-2 cm, ●: 5-6 cm, ○: 12-14 cm, △: 20-22 cm, ▲: 28-30 cm, □: 30-32 cm) of sediments incubated at 10°C under 100 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ using cool fluorescent light with a 14-h light : 10-h dark photo-cycle.

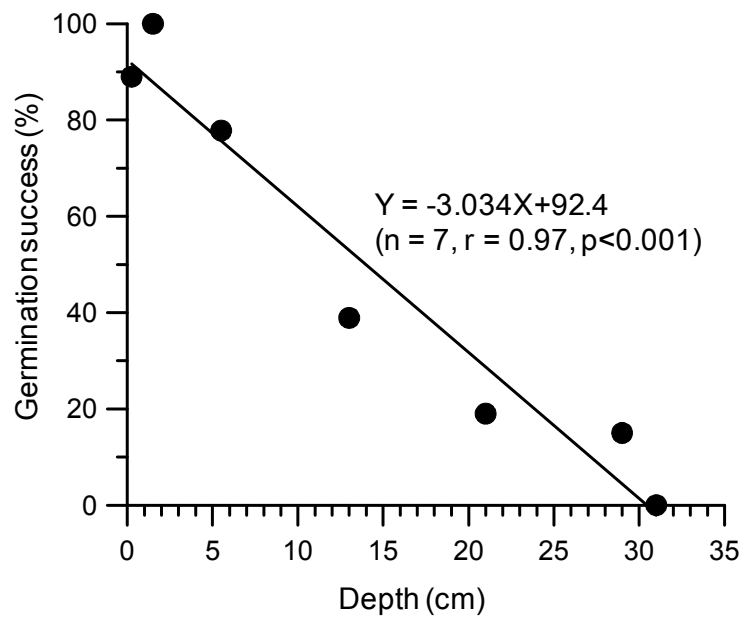


Fig. 45. Correlation between sediment depth (cm) and germination success (%) of *A. tamarensis* cysts.

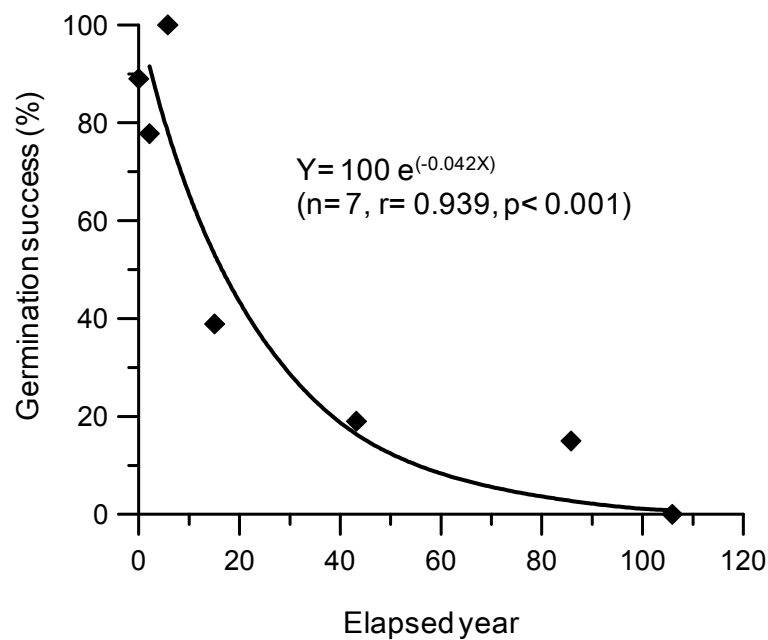


Fig. 46. Correlation between elapsed year and germination success (%) of *A. tamarensis* cysts in natural sediment in Funka Bay.

Table 8. Molecular identification of vegetative cells obtained from supernatant of the cultures in germination experiments shown in Fig. 43 and *A. tamarensis*-like cysts isolated by micro-pipetting from the sediments samples. Both vegetative cells and cysts were identified by the LAMP method using both *A. tamarensis* and *A. catenella* primer sets (Nagai and Itakura, 2012, Nagai et al., 2012).

Sediment depth (cm)	Vegetative cells				No	Isolated cyst			
	Supernatant 1		Supernatant 2			Positive number and %			
	At	Ac	At	Ac		AtN	At%	AcN	Ac%
0-0.5 cm	+	-	+	-	9	8	89	0	0
1-2 cm	+	-	+	-	10	10	100	0	0
5-6 cm	+	-	- ^a	-	10	10	100	0	0
12-14 cm	+	-	+	-	10	9	90	0	0
20-22 cm	+	-	+	-	20	17	85	0	0
28-30 cm	+	-			10	9	90	0	0
30-32 cm ^b	-	-			5	5	100	0	0

Sediment depth is distance from the bottom surface. Supernatants 1 and 2 were collected from different culture holes of the cysts after the end of the experiments. At is result of *A. tamarensis* primer. Ac is result of *A. catenella* primer. + is positive reaction. – is negative reaction. No is number of cysts isolated.

AtN is number of positive reaction of *A. tamarensis* primer and $At\% = 100 \times AtN / No$.

AcN is number of positive reaction of *A. catenella* primer and $Ac\% = 100 \times AcN / No$.

a Vegetative cells were dead during incubation for 1 month.

b No germination of the cyst was observed in this culture.

Gaps between number of isolated cyst (No) and number of positive reaction of *A. tamarensis* primer (AtN) might be caused by incomplete in DNA extraction from the single cyst.

この実験で使用した 7 つの層から得た堆積物中の *A. tamarense* タイプシストと、実験中マイクロプレートのウェル中に発芽して生じた栄養細胞について *A. tamarense* と *A. catenella* のプライマーセットを用いた LAMP 法による種の同定を行った (Table 8). 栄養細胞の全ておよび単離されたシストの 91.9 % (74 シスト中 68 シスト) について LAMP 法による反応が認められ、*A. tamarense* であると同定された. *A. catenella* と同定されたものはなかった. 6 個のシストについて同定に失敗した理由は、単一細胞からの DNA の抽出が不完全だったことによると考えられる. 同様に、栄養細胞の種同定は 2 つのケースを除き成功した. この 2 つのケースは上澄み液に栄養細胞がいなかった可能性がある. LAMP 法により *A. tamarense* のみが検出されたことは、噴火湾に *A. catenella* シストがないか、あるいは極めて少ないことを示している.

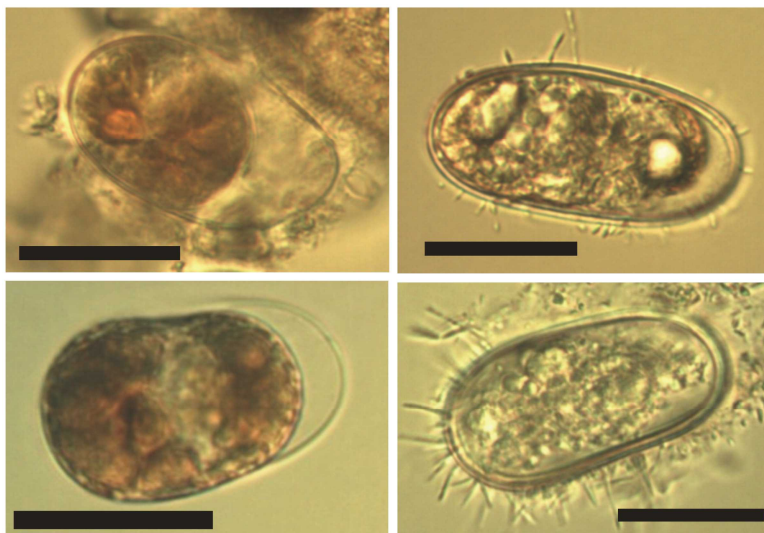


Fig. 47. *A. tamarense* cysts from surface sediment (0 to 0.5 cm depth, left top: cyst wall is thin with many substance, left bottom: cyst wall is thin with no substance) and deep sediment (30 to 32 cm depth, right top: cyst wall is thick with hair like extension, right bottom: cyst wall is thick with hair like extension and many substance). Scale bars are 20 μ m.

3-2-3-5 *A. tamarense* シストの顕微鏡観察

堆積物表層から得た *A. tamarense* シストは顆粒状の褐色の充実した原形質を持っていた (Fig. 47 left). 原形質の中央部にある透明部分は核であるが、このシストはクロロフィル自家蛍光を示さなかった. おおむね 100 年前 (30~32 cm 層) の *A. tamarense* シストには、透明あるいは薄い色をした顆粒状原形質が観察された (Fig. 47 right). 深度 30~32 cm 層のシストの細胞壁は表層 (0~0.5 cm) のシストに比べて著しく厚みがあった. また、シストの表面には毛状の突起構造が認められた.

Table 9. Observation of the wall of *A. tamarense*-type cysts stored in a freezer (-20°C) collected from surface sediment at 40 m-depth point off Date, Funka Bay in September, 2009.

Cyst No.	Thickness	Texture	Cyst No.	Thickness	Texture	Cyst No.	Thickness	Texture
1	1	1	35	1	2	69	1	2
2	1	1	36	1	1	70	1	2
3	1	2	37	1	1	71	1	1
4	1	2	38	1	2	72	1	2
5	1	2	39	1	2	73	1	1
6	1	2	40	1	2	74	1	2
7	1	1	41	1	2	75	1	2
8	1	2	42	1	2	76	1	2
9	1	2	43	1	2	77	1	2
10	1	2	44	1	2	78	1	2
11	1	1	45	1	2	79	1	2
12	1	2	46	1	1	80	1	2
13	1	2	47	1	1	81	1	1
14	1	2	48	1	2	82	1	1
15	1	2	49	1	2	83	1	2
16	1	2	50	1	2	84	1	2
17	1	1	51	1	2	85	1	2
18	1	2	52	1	2	86	1	1
19	1	2	53	1	2	87	1	1
20	1	2	54	1	2	88	1	2
21	1	2	55	1	2	89	1	2
22	1	2	56	1	2	90	1	2
23	1	2	57	1	2	91	1	2
24	1	1	58	1	2	92	1	2
25	1	1	59	1	2	93	1	1
26	1	1	60	1	2	94	1	1
27	1	2	61	1	2	95	1	2
28	1	2	62	1	2	96	1	2
29	1	2	63	1	2	97	1	2
30	1	2	64	1	1	98	1	2
31	1	2	65	1	2	99	1	1
32	1	2	66	1	2	100	1	2
33	1	2	67	1	2			
34	1	2	68	1	2			

Thickness of cyst wall (type 1; thin)

Texture of cyst wall (type 1: smooth with almost no substance, type 2: smooth with many substances)

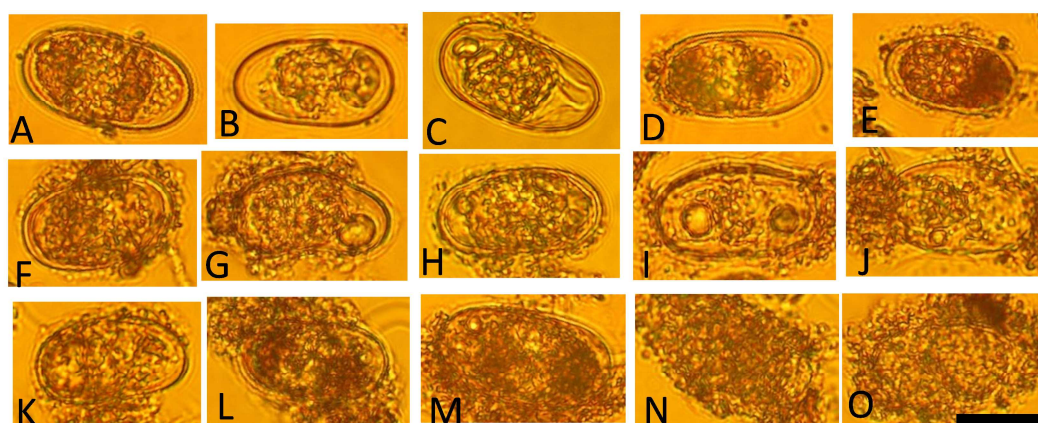


Fig. 48. The observation of *A. tamarense*-type cysts which collected from 0-1 cm bottom layer at 40 m-depth point off Date, Funka Bay in September, 2009. Special references were the thickness and the texture of cyst wall. A-D; textures of cyst wall were smooth with no substance (type 1 in Table 9), E-O; textures of cyst wall were smooth with many substances (type 2 in Table 9). Scale bar is 20 μ m.

表層堆積物から得たシスト 100 個についてシスト壁の厚みと性状を調べたところ、いずれもシスト壁は薄く、多くのシストが凝集物を伴っていた。また、100 年前のシストに観察された毛状の突起は認められなかった (Table 9, Fig. 48)。原形質の状態については凍結による変質の可能性もあったため、観察の対象としなかった。これらのことから、100 年前のシストにみられたシスト壁の厚みは堆積物中に埋没している過程で獲得した可能性が示唆された。深層堆積物のシストについては観察されていない。

3-2-4 考察

3-2-4-1 *A. tamarense* シストの長期生残性

自然海域の海底堆積物中においては、いくつかの渦鞭毛藻種でシストが長期生残の能力 (50~100 年) を持つことが報告されている (McQuoid et al. 2002, Lundholm et al. 2011, Ribeiro et al. 2011)。McQuoid et al. (2002) は 3 年前に堆積した堆積物中の *A. tamarense* のシストが発芽できたことを報告している。Mizushima and Matsuoka (2004) は *Alexandrium* spp. シストが少なくとも 8 年以上は発芽能を維持できることを示唆している。本研究では、*A. tamarense* シストの一部が天然堆積物中での長期生残能力 (約 100 年) を持つことを明らかにした。この結果は現在までのところ、本種に関する最長の記録である。しかし、このデータが天然堆積物中の *A. tamarense* シストの生残期間の限界を示すものではなく、シストの生残にさらに適した環境条件下ではさらに長い期間生残できる可能性がある。30~32 cm 層から得たシストはおおよそ 100 年前の個体群を反映しているといえる。*A. tamarense* の個体群の性質が 100 年前と現在とで変

化しているならば、シストの生理生態学的特徴は 100 年前と現在とで大きく異なる可能性がある。シストは遺伝的多様性の分散を助け、多様性を確保する貯蔵庫として機能することにより、その個体群の生残能力を増大させる機能を持つと考えられる (Jones and Lennon 2010)。シストの生残性の高さは噴火湾の *A. tamarense* 個体群の遺伝的多様性の維持にも大きく貢献していると考えられる。

3-2-4-2 形態観察

形態学的観察は 2009 年 10 月、堆積物コアを採集してから約 9 ヶ月後に行った。そのため、形態観察結果が 0~0.5 cm 層と 30~32 cm 層の保存環境の違いだけでなく、コア採取後の保存条件にも影響されている可能性があると考えた。0~0.5 cm 層から得たシストは、形態学的特徴が発芽直前のシスト (Itakura and Yamaguchi 2001) によく似ていたが、クロロフィル蛍光は認められなかった。シストの赤い自家蛍光は、発芽直前の葉緑体が活性化された状態のマーカーとして使うことができる (Anderson and Keafer 1985)。8 月から 12 月の時期は噴火湾における *A. tamarense* のシストの休眠期間に相当する (第 2 章第 3 節) ので、10 月に観察された 0~0.5 cm 層のシストは休眠期にあったと想定される。30~32 cm 層で約 1 ヶ月間の培養で発芽しなかったシストを観察したところ、このシストには顆粒状の色のほとんど無い原形質が認められた (Fig. 47 right)。このような無色に近い原形質は発芽実験の開始時にはすでに観察されていた。デンプン様多糖と長鎖不飽和脂肪酸 (C₁₄, C₁₆, C₁₈, C₂₂) が渦鞭毛藻の栄養貯蔵物質であり、Chl. a や Chl. c₂, ベータカロチンおよびペリディニンが渦鞭毛藻の細胞中には含まれるという報告がある (Steidinger and Tangen 1996)。嫌気条件下では、蓄積物質の炭水化物は脂質よりも蓄積に適しており、呼吸量はシスト年齢が増加するに従って減少し、呼吸基質も炭水化物が枯渇した後、その他の物質 (脂質 or タンパク質) が利用されるという (Binder and Anderson 1990)。Genovesi et al. (2009) は新鮮な *A. tamarense* のシストを冷暗環境下で保存し、12 ヶ月後に透明な顆粒状内容物を持つシストを観察した。そして、原形質の色の退色は蓄積物質量の減少を示すものであろうと報告している。Anderson (1980) は、*A. tamarense* のシストが死亡を示す最初の兆候は黄色の凝集物が喪失すること、次の兆候は細胞内デンプンの顆粒化が進むこと、シストの貯蔵物質がなくなるまでこの顆粒は細胞の中央部に徐々に後退すること、そして分厚い細胞壁が残るということを報告している。本研究では、30~32 cm 層から得たシストの原形質は無色であったが、顆粒状でも空洞でもなかったこと、さらに発芽試験でそれらが生残していることが示されたことから、割合は高くなくともシストはまだ生残していたことが明らかである。Sussman (1965) はシダ類の孢子の細胞

壁の厚みがシストの休眠期間の持続性と関係し、胞子の細胞壁が厚い種では胞子の生残性が高いことを指摘した。Wall and Dale (1969) は、渦鞭毛藻についてもシストの細胞壁が厚い種のシストの生残性が高い事例があることを指摘している。*Scrippsiella hangoei* のシストは嫌気耐性が低く、その理由はシストの細胞壁が薄いためであると報告している (Larsen et al. 1995)。観察した表層堆積物から得たシストはいずれも細胞壁が薄かった (Table 9, Fig. 48)。表層のシストと 30~32 cm 層のシストの細胞壁の厚みが異なったこと (Fig. 47) は、嫌気環境である堆積物への埋没期間が長くなった結果、自らシストの細胞壁を厚くすることにより、嫌気耐性を高めている可能性を示すと考えられる。30~32 cm 層のシストの細胞壁には毛状の突起が多数観察された。これはバクテリアかカビ類等によるシストへの攻撃のように見えるが、詳細は不明である。細胞壁を厚くすることで、他生物の攻撃からの耐性を高めている可能性がある。

3-2-4-3 培養した 30~32 cm 層の単離シストが発芽しなかった理由

本研究では、*A. tamarense* のシストの長期生残について 2 種類の発芽試験を実施した。1 つ目は堆積物のバッチ培養実験であり、30~32 cm 層から得たいくつかの *A. tamarense* のシストは発芽した (Table 7)。2 つ目は堆積物からピックアップしたシストの培養実験で、30~32 cm 層の堆積物から得た単離シストは全く発芽しなかった (Fig. 44)。この実験ではシストの発芽成功率は堆積深度が増すにつれて減少し (Fig. 44)、30~32 cm 層のシストの生残比率は非常に低いと推測された。2 種類の実験に使用したシストの数は大きく異なった。30~32 cm 層の堆積物に含まれるシスト密度は 42 cells g⁻¹ wet sediment (128 cells g⁻¹ dry sediment) であり、前者では約 84 個のシストが実験に供されたことになる。他方、後者では 8 個のシストがマイクロピペットでピックアップされ、実験に供された。以上から、後者でシストの発芽が検出されなかった理由のひとつとして、実験に供されたシストの数の違いを挙げることができる。また、後者の実験における培養条件の違いが、異なる結果をもたらした可能性もある。前者ではシストは堆積物（栄養塩、金属などが含まれている）と混在しており、なおかつ f/2 改良型培地（栄養塩、金属、ビタミン類を含む）を使用し、温度 12.5°C で培養された。これに対して、後者では泥を除いた濾過海水（栄養塩、金属、ビタミン類を含まない）を使用し、温度 10°C で培養された。*A. tamarense* のシストには高濃度の N と P が細胞内にストックされているため、環境中の N と P 濃度は発芽に影響しないとされている (Genovesi et al. 2009)。0~0.5 cm 層の新鮮なシストは褐色の顆粒状の物質を持ち、豊富な N, P ストックを細胞内に持っていると考えられている。他方、深度 30~32 cm 層のシストは無色の原形質と

厚い細胞壁を持ち、発芽のために必要な物質のストックは乏しいものと考えられる。広島湾から得た *A. tamarense* のシストを用いた実験では、新鮮なシストを使ったにもかかわらず、単離し、個別に 48 ウェルのマイクロプレートに接種したところ、泥と一緒に培養したものに比べて発芽成功率は低かったという (<5 %) (長井ほか, 私信)。

堆積物採集とサブサンプル作成操作の間、船上での太陽光への暴露は 1 時間以内であった。後者の発芽実験は堆積物を採取して 3 ヶ月後に行われた。1 時間以上の光への暴露は *A. tamarense* の発芽を誘発すると報じられている (Genovesi et al. 2009)。暗条件は発芽を遅らせる要因となるが、*A. tamarense* についてはその影響はほとんどないことが知られている (Anderson et al. 1987)。もし、シストの発芽が光への暴露によって刺激されていたとすれば、多くのシストは 3 ヶ月間の暗条件下で発芽し、2 つの実験の結果の違いに影響したかもしれない。しかし、堆積物サンプルは堆積物採集後、船上では冷暗所 (5°C)、実験室でも冷暗所 (3°C) で保存されていた。シストは海底堆積物中に埋没したままである。噴火湾における *A. tamarense* のシストの発芽に好適な temperature window は 7~18°C (18°C 以上の可能性あり) である (第 2 章第 3 節)。採集された堆積物の保存環境では、シストの発芽は低く抑えられていたと考えられる。実験室における *A. catenella* の培養実験による研究では、株の履歴と栄養条件が発芽に影響し、発芽成功率の頻度は親株の組み合わせと栄養塩条件に依存することが報告されている (Figuerola et al. 2005)。

3-2-4-4 シストの生残と嫌気条件

A. tamarense のシストの保存期間と発芽成功率の間に負の指数関係があったことは、シストが海底へと堆積後、表層堆積物中で鉛直混合の影響を受ける 10 年間に急激に、その後は非常にゆっくりと発芽活性を失うことを示している (Fig. 46)。酸素条件は鉛直混合層の好気環境から、単純堆積層の嫌氣的環境へと変化する。本研究の結果は *A. tamarense* のシストの生残性が好気環境中で急激に減少し、嫌気環境中でゆっくり減少することを示した。休眠ステージのシストの生残における酸素の役割については異なる証拠がある。嫌気条件は珪藻類の休眠期細胞や鞭毛藻のシストの発芽および生残性を低下させると考えられている (Hollibaugh et al. 1981, Kremp and Anderson 2000)。しかしながら、嫌気条件はいくつかの渦鞭毛藻のシストの生残を助ける事が示唆されている (Blanco 1990)。このように嫌気条件に対する生理的反応は渦鞭毛藻の種類によって大きく異なる。また、嫌気条件のメリットとして、休眠期のシストをベントスによる捕食やバクテリアの攻撃から保護する役割を果たすことが報告され

ている (McQuoid et al. 2002). 噴火湾から採取し、5°C の冷暗所、好気環境に 10 年間保存していた堆積物コア中に残されたシストが発芽能を失っていたことが観察されている (宮園ほか未公開データ). しかし一方、海底堆積物中の *A. tamarense* の天然シストを 10°C、暗所、嫌気条件下で保存したところ、少なくとも 13 年間生残し、好適な培養条件に置かれた時には発芽が確認されたという報告がある (Nagai et al. 2007). 30~32 cm 層のシストの観察および発芽実験から、*A. tamarense* のシストは嫌気条件下での長期保存対して適応し、自ら形態を変化させ、嫌気耐性を高めることにより生残率を長期間保持していると考えられる.

3-2-4-5 過去に発生した *A. tamarense* の大規模ブルーム

シスト密度の堆積物中における鉛直分布を詳細に見ると、3 cm 層に小さな極大、22 cm 層に大きな極大が認められた (Fig. 43). 表層以外に形成されているシスト密度の極大を示す層は、単年度の大きなブルームあるいは複数年の連続したブルームの履歴を反映するのみならず、生物過程 (生物攪乱、発芽、死亡) および物理過程 (混合、沈殿、再懸濁) から影響を受ける (Keafer et al. 1992). 0~6 cm 層にみられた小さなシスト密度の極大 (Fig. 43) は生物過程と物理過程の影響を受けていると考えられる. 他方、生物攪乱層より下の層では、堆積物は順序よく蓄積されている. 堆積物は堆積後 10 年間に生物攪乱の影響を受けると想定されるので、堆積物コアの年代測定結果には 10 年間の移動平均が現わされていると考えられる. この考え方を堆積物中のシストの鉛直分布に適用すると、現在の生物攪乱層より下のシスト密度は、10 年間の生物過程や物理過程の影響、ならびに堆積後の自然死亡の結果を反映しているが、過去の履歴を正確に反映していると思われる. 過去に向かって (深い層で) シスト密度が増加傾向にあることは、本種のブルームが現在よりもはるかに大規模であったことを示している. このように、シスト密度の比較はブルームについて 10 年単位の量的比較を論じることができると言えよう.

噴火湾において養殖ホタテガイに麻痺性貝毒 (PSP) が最初に検出されたのは 1978 年である (西浜ほか 1979). 噴火湾から採取したホタテガイの麻痺性貝毒についてのモニタリングデータは、PSP のレベルが 1980 年代に高く、1990 年代に低かったこと、そしてこの変動が *A. tamarense* の出現状況と一致することを明確に示している (工藤ほか 2005). 14~16 cm 層のシスト密度は 9~12 cm 層の密度よりも高く、0~8 cm 層のシスト密度は 9~12 cm 層よりも低い. 堆積物コアの年代測定は 9~12 cm が 1990 年代、14~16 cm 層が 1980 年代のものであることを示した (Fig. 43). シスト密度における鉛直的な濃淡は、1980 年代以

降の噴火湾における PSP による貝の高毒化と *A. tamarense* ブルームの変化とよく一致しており、*A. tamarense* ブルーム規模の 10 年毎の変化の履歴がこの堆積物コアに記録されている。*A. tamarense* タイプのシスト密度の極大層の存在は、過去の 10 数年の本種ブルームの規模の違いと一致することは第 3 章で述べた。しかしここでは少なくとも 1900 年台に *A. tamarense* のブルームがあったこと、1960 年代に最も大きなブルームが起こっていたことを示唆した (Fig. 43)。

本章第 1 節では、Fig. 40 に火山灰法で推定した堆積年代とシストの堆積物中の鉛直分布を示し、1900 年頃と 1970 年頃に極大層があることを示した。本研究では、火山灰層の上端を帯磁率の最大値を示す深度で定めたが、この深度決定にも誤差を含む。火山灰法では火山灰を含む層を基準とし表層までの 2 点間距離を平均堆積速度として引き延ばすため、コアサンプリング時のサンプルの圧縮や伸長の影響を完全には排除できない。これに対して Pb210 法では、各層における過剰鉛の放射線量をトレースするため、2 点からの引き伸ばし推定に比べるとコアサンプルの採集時の圧縮や伸長の影響を排除できる。このことから、より正確な年代測定を行った本節の Fig. 43 と対比すると、第 1 節の Fig. 40 で 1900 年頃と推定された極大層は 1960 年代のものであると判断できる。

噴火湾を含む日本の 9 ヶ所の沿岸から得た *A. tamarense* 個体群の遺伝学的解析の結果、顕著な個体群隔離と、各地の個体群間で遺伝的交流はほとんどないことが判明し、噴火湾の個体群は他所とは遺伝的に隔離したものであることが示唆されている (長井 2007)。本研究で得られたデータは、噴火湾には *A. tamarense* が少なくとも 100 年前には存在したことを強く示唆している。将来の課題としては、噴火湾における *A. tamarense* 個体群について、堆積物中に残された鉛直的な遺伝的構造の把握があげられる。

第4章 総合考察

4-1 噴火湾産 *A. tamarense* の生存戦略

A. tamarense を含む *Alexandrium* 属の麻痺性貝毒原因プランクトン種によるブルームは、1970年代にはヨーロッパ、北米、および日本の温帯エリアでのみ、その発生が知られていた (Dale and Yentsch 1978). 1990年代になると、PSPは北半球のみならず、南半球までを網羅し、南アフリカ、オーストラリア、インド、タイ、ブルネイ、マレーシア、フィリピンおよびパプアニューギニア等から報告されている (Hallegraeff 1993). そして、現在は北極海にも生息が確認され (Natsuike et al. 2013), グローバルな問題として認識できる. *Alexandrium* 属プランクトンの世界規模の分布拡大の要因としては、技術の発展による検出力の向上も重要であるが、有毒種の科学的知見が増えたこと、養殖のための沿岸水の利用が拡大したこと、富栄養化や異常気象などによりプランクトンブルームが刺激されたこと、および船舶のバラスト水や二枚貝資源の移動に伴う地域間の渦鞭毛藻シストの輸送等が考えられている (Hallegraeff 1993). この現象は日本でも同様であり、*A. tamarense* ブルームによる麻痺性貝毒の発生は1980年代までは北海道・東北・関東地方の太平洋岸の一部海域に限られていた

(Kawabata et al. 1962, Shimada et al. 1996, 嶋田 2000, Ishida and Sonoda 2003). しかし1990年代になり、本種のブルームは東日本の未発生海域だけでなく、西日本でも発生するようになり、特に広島湾や大阪湾では毎年のように麻痺性貝毒が発生するようになった (Asakawa et al. 1995, 一見ほか 2000, Itakura et al. 2002, Imai et al. 2006). これらの事実は、*Alexandrium* 属のプランクトン種がさまざまな沿岸環境に適応できる生理生態的特性を持っていることを示すと言えよう. 長井 (2007) は日本の9ヶ所から集めた *A. tamarense* 株について遺伝的多型解析を行い、日本における *A. tamarense* の遺伝分化が地理的距離に応じて生じ、海流などの自然現象による集団間の遺伝子流動が制限されてきたことを強く示唆した. 第3章第2節で示したとおり、噴火湾においては1900年代には *A. tamarense* が分布しており、地理的独立性を保ってきたと考えられる.

麻痺性貝毒による人への健康被害については、1793年、George Vancouver 船長とその乗組員がカナダのブリティッシュコロンビア州の現在 Poison Cove として知られる場所に上陸した際、麻痺性貝毒に汚染された二枚貝を食べて発生した死亡記録が最も古いものの一つである (Dale and Yentsch 1978). そのとき、先住民の部族が渦鞭毛藻ブルームによって夜の海に燐光がみられる時には、二枚貝を食べることをタブーとしていたことを記録している. 約200年前のことである. その後、この貝毒が *Alexandrium* 属のブルームによる PSP であること

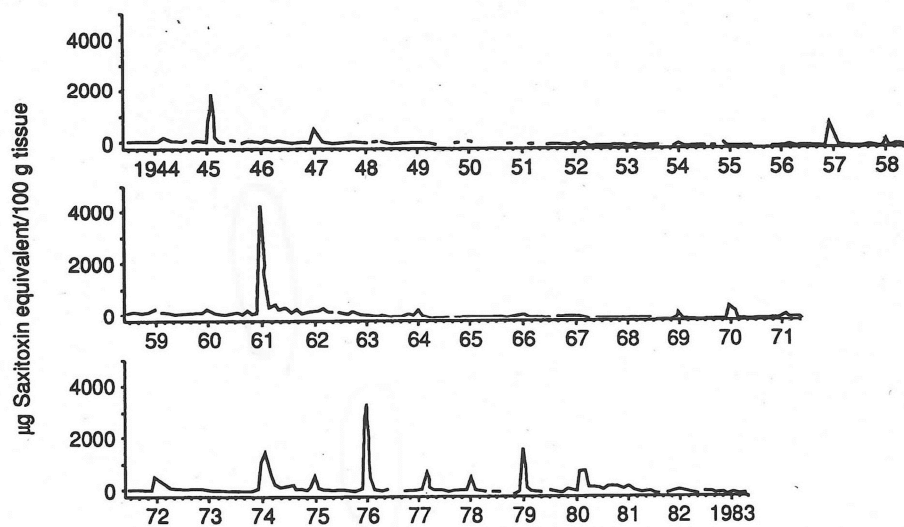


Fig. 49. Concentration of PSP toxins in Bay of Fundy clams (μg saxitoxin equivalent per 100 g tissue) in the period 1944-1983 (from White 1987).

が判明し、1944 年以降、マウステストによる二枚貝の貝毒化モニタリングが行われている (White 1987). Fig. 49 には、1944 年から 1983 年までのカナダ東部沿岸の Fundy 湾におけるアサリの PSP 濃度の経年変化を示した (White 1987). 39 年間で 2000 μg Saxtoxin equivalent par 100 g tissue 以上に高毒化したのは、1945 年、1961 年、1976 年の 3 回だけであり、高毒化年は連続していないことが大きな特徴である. 第 2 章第 1 節で示したように、噴火湾において 1981 年から 2012 年までに発生した大規模ブルームは 1984, 1989, 1994 年の 3 回であり、大規模ブルームは連続しては発生していない. 第 3 章第 2 節で示したように、1960 $\pm$ 10 年代には *A. tamarense* の大きなブルーム発生年があったと考えられる. 噴火湾の表層堆積物は約 10 年間の生物攪乱による均質化にさらされるため、1 回の極めて大規模なブルームが起これば、結果として供給された大量のシストはその年をピークとし深浅方向に拡散されるので、それに続く年のブルーム規模が小さくても、Fig. 43 に示したような鉛直分布を示すであろう. このように、数年～十数年に 1 回程度形成される大規模ブルームは、*A. tamarense* の種の維持や地理的拡散にとって重要な意味を持つと考えられる. むしろ、十数年に 1 回程度のまれにしか大規模ブルーム形成ができないような環境の中で種を維持・拡大するための適応的戦略を持っていると考えるべきかもしれない. 渦鞭毛藻のシストにおける発芽戦略は、種類や生息環境によって異なるであろう. たとえば、季節的変動の大きな環境では、同調的にシストが発芽することによりブルーム形成の接種機能を果たすと考えられている (Anderson 1998, Rengefors

1998, Kremp and Anderson 2000) . 穏やかな気候条件下では、連続的な発芽が大規模ブルーム形成にとって有利となる (Ishikawa and Taniguchi 1996) . 冬季結氷期をもつ寒冷な亜寒帯沿岸では、栄養細胞の増殖に不適な低水温で高い発芽活性を持ち、栄養細胞を水柱に供給する種が報告されている (Kremp and Anderson 2000) . 発芽期が temperature window と一致するあるいは一部重複すると効果的な大量接種が期待できるので、それに続く栄養細胞の増殖が成功すれば大規模ブルームに繋がる可能性がある. 本研究のシミュレーションによれば、噴火湾の *A. tamarense* は temperature window 範囲での発芽率は $50\% \text{ } 10\text{-days}^{-1}$ 以上と高くなった (Fig. 23) ため、発芽によるシードポピュレーションの消費は短期間に集中することになる. この集中した栄養細胞の接種に続く増殖プロセスは、環境条件が悪いとブルーム形成の失敗につながるため、リスクが大きい選択といえる. 他方、発芽期が temperature window と重複しないケースでは、発芽による栄養細胞の水柱への接種が細々と持続すると予測され、それに続く栄養細胞の増殖に適した環境の到来のチャンスは長期間あると考えられる. この場合もブルームの成功は、栄養細胞の増殖環境に左右される. 噴火湾における大規模ブルーム年の試算では、発芽期は発芽に好適な temperature window より低い水温条件にあり、発芽期を通じたシスト発芽総数は初期シスト密度の $18 \sim 77.4\% \text{ } 10\text{-days}^{-1}$ に達し (Fig. 31, 32, 33) , シードポピュレーションの節約になっていた. シストには発芽によるブルーム形成への寄与とともに、栄養細胞が生存に不適な環境の季節を回避するという重要な役割を持つ (Wall 1971, 1975, Anderson and Wall 1978, Dale 1983, Anderson 1984) . シストの発芽規模が直接のブルーム形成に重要でないならば、発芽規模を抑えることによって、シードポピュレーションを節約するという戦略もあり得ると考えられる. 以上のことから、噴火湾における *A. tamarense* の生態戦略は次のように整理できる.

- ①「シードバンクが長持ちする」：噴火湾産 *A. tamarense* のシストは嫌気条件下での保存性と生残性が高いため、シードポピュレーションの長期間にわたる生残と維持が可能である.
- ②「初期個体群形成のために大量のシスト発芽を必要としない」：シストの持つ発芽に好適な temperature window は $7 \sim 18^{\circ}\text{C}$ 以上であるが、内因性休眠により発芽期は $3 \sim 5^{\circ}\text{C}$ の時期に設定されていることでシスト群の消耗を節約し、栄養細胞は $3 \sim 5^{\circ}\text{C}$ という低水温条件下で増殖でき、かつ弱光条件 ($I_0: 3.51 \sim 4.46 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) への適応を通じて寒冷な時期に栄養細胞の初期個体群を形成するチャンスの幅を確保している.
- ③「卓越発生年級に依存する」：数年～十数年に 1 回の頻度でしか中・大規模ブルームの機会を得られない場合でも、海底堆積物中のシスト群をバイオター

バージョン等により維持・拡大できる。

4-2 環境要因の長期的変動傾向とブルーム発生

第2章第1節では、1981年から2012年までのモニタリングで得られた *A. tamarense* のブルームパターンを類型化し、ブルーム時期が1980年代に比べて2000年代には1カ月程度早まっていること、3月の水温が上昇傾向にあること、4月の塩分が上昇傾向にあることを明らかにした。第2章第2節と第3節ではそれぞれ、*A. tamarense* 栄養細胞の増殖特性、シストの発芽特性を明らかにし、第4節ではこれらを用いて現場観察された栄養細胞の増減要因をシストの発芽、栄養細胞の増殖およびその他に区分し、個体群形成過程におけるシスト発芽の役割を検討した。その結果、噴火湾における *A. tamarense* シストの発芽は、内因的休眠と外因的休眠、および発芽好適 **temperature window** によってコントロールされているが、発芽期（1～6月）は好適 **temperature window** の下限を下回る水温環境にあるため、発芽による栄養細胞添加効果は極めて低いと予測された。しかし、発芽により水柱に添加された栄養細胞はゆっくりと増殖することができる環境条件があれば、初期個体群を形成、維持することができ、その後増殖条件が好転すればブルームを拡大できる。このように、ブルーム形成の成功は栄養細胞の増殖に大きく依存し、初期個体群形成にシストの発芽は必要であるものの、その規模はブルーム規模に影響しないと考えられた。

こうした *A. tamarense* のブルーム動態において、長期的な3月の水温の上昇傾向と4月の塩分の上昇傾向の影響を以下に考察する。第2章第1節では、最低水温期の水温が上昇傾向にあることは *A. tamarense* の初期個体群形成に何らかの影響を及ぼしており、*A. tamarense* のブルーム期間そのものが1995年以降早まっていることと、水温変化およびそれに伴う環境変化がブルームの形成に影響している可能性があるとして述べた。第2章第3節で示したシストの発芽活性は、3～5月に培養温度5°C下で10～20% 10-days⁻¹程度であり、3°C下では5% 10-days⁻¹以下と水温の変化に対する発芽活性の変化は大きい (Fig. 23)。このことから、最低水温期の水温上昇は沿岸域のシストの発芽率をわずかでも上昇させ、水柱への栄養細胞の接種期間を長くさせるので、初期個体群の接種効果はプラスに働くと考えられる。近年、ブルーム期間そのものが早まっているのは、接種時期が早くなっているためと推察される。他方、第2章第1節では、4月のみにみられた塩分上昇トレンドは1996年以降のブルーム規模が小さいことと関係し、ブルーム拡大にとってマイナス要因となっている可能性があるとして述べた。噴火湾における春の塩分低下は沿岸親潮系水の流入と雪解け水の流入による (大谷 1979, 1981, 長谷川・磯田 1997)。このうち、沿岸親潮系水は噴火湾

の北東部、室蘭側の 30～50 m 以浅の表層から湾内に侵入するため、侵入のタイミングが遅くなれば湾奥南西部では高塩分の冬期噴火湾水が残りやすい環境となる。大谷（1971）は沿岸親潮系水の塩分、水温指標を 33.0 以下、 2°C 以下としている。これに従いモニタリングデータを整理し、沿岸親潮系水の侵入時期を経年的に比較した（Fig. 50）。噴火湾南西部沿岸域の水が冬期噴火湾水から沿岸親潮系水に交替する時期は、早い年には 1～2 月ということもあるが、3 月に交替する年が多く、4 月にはおおむね交替が完了するのが常である。3 月に水塊が交替した年は 1981～1996 年に比べて 1997～2012 年では少なく、近年は沿岸親潮系水の湾内侵入時期に遅れがあることを示唆しているが、4 月にはおおむね沿岸親潮系水に交替している。

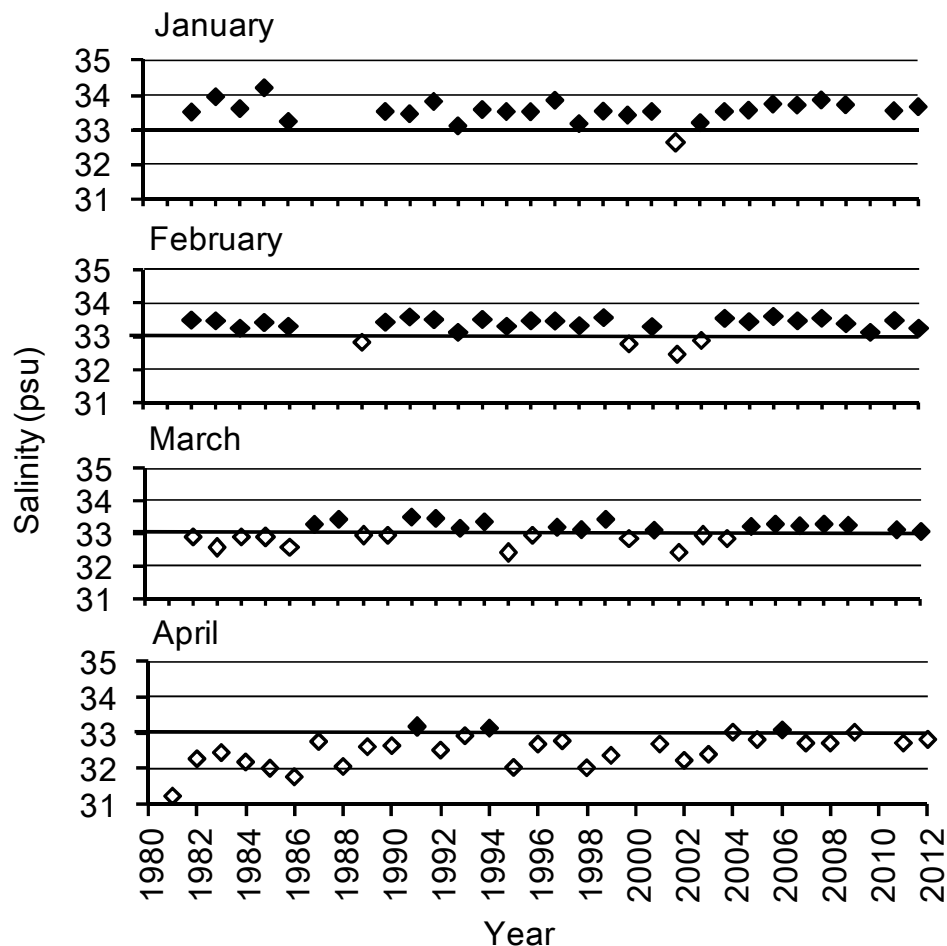


Fig. 50. Long-term fluctuations of monthly averaged salinity of water columns in western coastal area of Funka Bay. The symbol $\blacklozenge$ indicates Winter Funka Bay Water with salinity of higher than 33.0 psu, and $\diamond$ indicates Coastal Oyashio Water with salinity of lower than 33.0 psu.

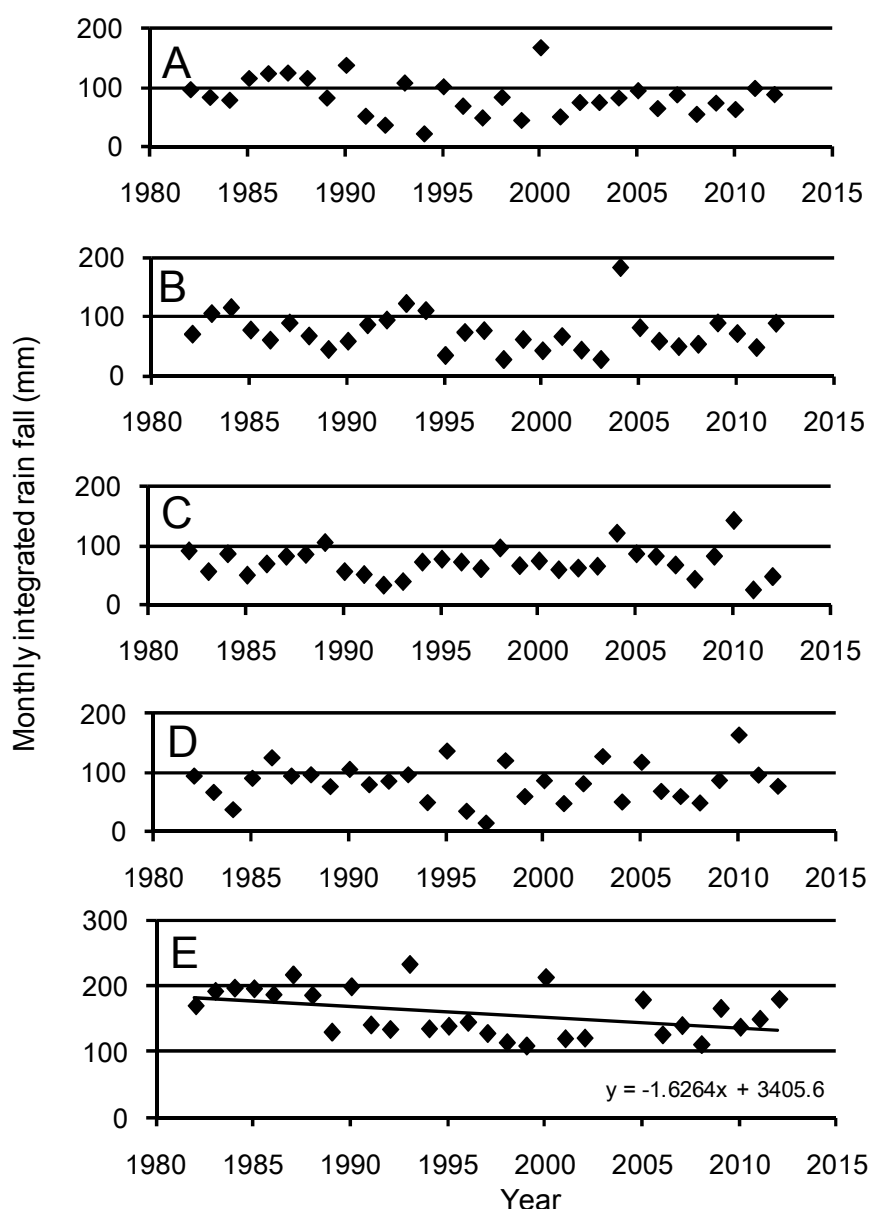


Fig. 51. Long-term fluctuations of monthly integrated rain fall (mm) recorded at AMeDAS Yakumo Station from 1982 to 2012. A: January, B: February, C: March, D: April, E: January and February, neglected maximum (2003) and minimum (2002) data. The negative linear regression was significant ($n=29$, $r=0.422$, $p<0.05$).

長谷川・磯田（1997）は4～8月の塩分減少期において、その減少量の3～6割程度は海面を通しての淡水供給によって説明できると指摘している。そこで、気象庁のアメダスデータから八雲観測点での降水量の経年変化を整理した（Fig. 51）。1月から4月までの月別積算降水量の経年変化には統計学的に有意な変化傾向は認められなかった。また、各年の1月と2月の降水量の間には1月の降水量が多い年には2月の降水量が多い（少ない）といった同調性は認められな

かった。そこで、冬期間陸上に蓄積される陸水の量の目安として、1月と2月の降水量を積算したものについて直線回帰検定を行ったところ、全32データでは有意でなかったものの、年による極端な値を排除するために、最大値(2003年)と最小値(2002年)を除いたところ、長期的に減少傾向が認められた($n=29$, $r=0.422$, $P<0.05$)。芳村・工藤(2003)は噴火湾に流入する河川の全流量は雪解け水が河川に流れ込む4月に特異的に高い明瞭な季節変化を示すことを指摘しており、4月の塩分上昇傾向は雪解け水など陸水由来の淡水流入量の減少が要因の一つであることが示唆された。陸からの淡水流入の減少は、密度躍層の発達を遅らせる要因となる。このことは、第2章第1節のFig. 11に模式的に示した成層発達に伴う表層での初期個体群形成(B)のプロセスに影響するであろう。1981~2012年の中で1997~2012年には非ブルーム年や小規模ブルーム年しかないのは、4月の塩分上昇による密度躍層の発達の遅れによって成層構造が不安定となり、初期個体群形成の失敗頻度が高くなっている可能性が指摘できる。

3月の水温上昇傾向はシスト発芽の接種効果にプラスに働き、4月の塩分上昇傾向は栄養細胞の増殖にマイナスに働くと想定されるが、噴火湾における*A. tamarense*のブルーム形成の成功にはシストの発芽規模よりも栄養細胞の増殖が相対的に重要であるため、現在の環境要因で長期傾向が続くならば、*A. tamarense*の中・大規模ブルームは発生しにくい環境に向かうと考えられる。

4-3 噴火湾における麻痺性貝毒規模拡大への対応と戦略

噴火湾における*A. tamarense*ブルーム形成の成功の鍵は、栄養細胞の増殖環境にある。前述したように、4月の高塩分化傾向が続くと、中・大規模ブルームは発生しにくい環境に向かうと考えられ、麻痺性貝毒の規模拡大の可能性は低いと考えられる。しかし、レジームシフトが起きると一気に環境条件が変化して状況が一変する可能性があるため、地道なモニタリングの継続により、兆候をとらえることが必要である。特に、低温側にレジームがシフトした場合には1980年代の環境に戻る可能性があり、中・大規模ブルームの発生する可能性が大きくなる。他方、噴火湾では*A. tamarense*の小規模ブルーム年でも、麻痺性貝毒(PSP)によるホタテガイの出荷自主規制が行われる場合があるため、これに対するリスクマネジメントが不可欠である。北海道の貝毒プランクトン・モニタリング・プログラムでは、噴火湾において*A. tamarense*の栄養細胞数が100 cells L⁻¹を超えて増えると、ホタテガイの生鮮出荷自主規制値(4MU g可食部⁻¹)を超えるケースが多いことから、その半数(50 cells L⁻¹)を超えると、注意喚起がなされる(たとえば、北海道立総合研究機構水産研究本部2012)。

Table 10. Estimated inoculation numbers of nutritional cell in the water column from cyst germination at Otoshibe and Yakumo Stations. Hatched numbers indicate over 100 cells l⁻¹.

Year	Monthly inoculation number (cells l ⁻¹ month ⁻¹)						
	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.
1981				0	78	0	0
1982	2	0	1	9	18	5	1
1983	3	0	1	0	15	129	0
1984	0	0	1	0	0	8	3
1985	0	0	1	5	2	52	0
1986	1	0	3	0	36	4	4
1987			4	18	63	34	5
1988			7	69	0	132	3
1989		0	16	3	255	160	1
1990	26	56	73	166	195	13	1
1991	86	176	74	169	134	2	0
1992	21	11	36	0	32	298	0
1993	1	0	25	70	95	43	
1994	4	7	10	7	89	35	4
1995	15	21	5	3	53	65	1
1996	3	0	2	0	62	25	2
1997	8	5	4	11	40	54	1
1998	0	0	4	16	9	163	0
1999	0	0	3	11	8	0	2
2000	9	0	3	17	70	0	0
2001	1	10	2	0	20	40	0
2002	0	0	14	9	5	42	1
2003	0	0	3	0	53	75	0
2004	6	32	11	10	41	0	0
2005	3	0	5	14	61	6	0
2006	3	0	7	20	35	34	0
2007	11	19	8	37	12	12	0
2008	2	3	10	4	92	0	0
2009	7	0	10	15	42	30	0
2010		0	7	14	20	9	1
2011	0	0	9	45	24	5	1
2012	4	0	2	0	3	52	1

A. tamarensis 個体群が 100 cells L^{-1} レベルの栄養細胞密度となるには、シストの発芽によってわずかに水柱内に供給された後に栄養細胞が増殖することによる場合と、比較的活発なシスト発芽により栄養細胞が直接水柱に供給されることによる場合がある。前者については栄養細胞の増殖条件に大きく左右されるが、後者は発芽温度条件が大きく影響する。第2章第4節の簡単なモデルによる計算では (Figs. 31, 32, 33), シストの発芽規模が比較的大きかった 1989 と 1994 年には、5~7 月のシスト発芽由来の栄養細胞の水柱への添加密度は $70 \sim 100 \text{ cells L}^{-1}$ となるケースがあった。ホタテガイが PSP を体内に蓄積するには、*A. tamarensis* の栄養細胞 100 cells L^{-1} 程度の密度がある程度の期間持続することが必要である。そのため栄養細胞の増殖は不可欠な条件となるが、上記の結果はシストの発芽が直接、PSP の出荷自主規制をもたらす可能性も提示している。このことは、貝毒プランクトンのモニタリングにおいて従来注目されてきた栄養細胞の増殖条件とともに、シストの発芽条件として底層水温についても注目すべきことを示唆する。

32 年間のモニタリングデータを使い、第2章第4節の簡単なモデル計算式(15~21, 23, 24)によって、発芽により水柱に供給される栄養細胞の密度を求めた (Table 10)。堆積物表層のシスト密度は Fig. 26 に示した既存知見を直線内挿補間し、1998 年以降は $174 \text{ cysts cm}^{-3}$ が維持されているとみなした。発芽率は 10 日間の培養結果を毎月の発芽率に引き延ばしているため、過大評価の可能性があるものの、1980 年代から 1990 年代にかけて、発芽により 100 cells L^{-1} を超える栄養細胞の添加が 5~6 月に認められた。このことは堆積物表層におけるシスト密度が最も高い 1991 年を中心にみられることから、5~6 月の二枚貝の PSP 毒化に直接関わるシスト発芽の影響は、堆積物表層のシスト分布密度が高いと発生し易いと考えられる。そこで、1 月から 7 月までの底層水温 ($1 \sim 10^{\circ}\text{C}$) とシストの分布密度 ($100 \sim 1000 \text{ cysts cm}^{-3}$) の組み合わせにより、各月のシスト発芽を通じた水柱への栄養細胞の添加規模を推定した (Table 11)。その結果、1981 年から 2012 年の間に各月で観測された底層水温の最小~最大の値の範囲内で、栄養細胞の添加規模が PSP によるホタテガイ出荷自主規制の目安 (100 cells L^{-1}) を超えるケースは 5 月と 6 月にみられた。すなわち、5 月には底層水温 5°C でシスト密度 $400 \text{ cysts cm}^{-3}$, 6°C 以上で $200 \text{ cysts cm}^{-3}$ の場合に、 100 cells L^{-1} 以上の栄養細胞が水柱に添加される見積もりとなった。6 月には底層水温 6°C でシスト密度 $600 \text{ cysts cm}^{-3}$, 7°C 以上で $400 \text{ cysts cm}^{-3}$ の場合に、 100 cells L^{-1} 以上の栄養細胞添加の可能性があるとして算定された。1981~2012 年の 5 月と 6 月の平均底層水温はそれぞれ、 4.7°C と 6.9°C なので (Fig. 6), 底層水温が平均以上の年には 5 月のシスト密度が $400 \text{ cysts cm}^{-3}$ を超えていれば、シスト由来の栄養

Table 11. Estimated inoculation number of vegetative cells into the water column with cyst germination under the conditions of cyst density (100-1000 cysts cm⁻²) and bottom water temperature (1-10°C). Hatched columns indicate the range of bottom water temperature observed from 1981 to 2012 at Otoshibe and Yakumo stations. Bold white numbers indicate the case of inoculation number exceeded 100 cells l⁻¹ which is remainder criterion of self-imposed control on perishable scallop shipping in Funka Bay.

Cyst	Temp.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.
100	1				0	0	0	0
200	1	0	0	4	0	0	0	0
400	1	0	0	7	0	0	0	0
600	1	0	0	11	0	0	0	0
800	1	0	0	15	0	0	0	0
1000	1	0	0	19	0	0	0	0
100	2	0	0	1	0	0	0	0
200	2	0	0	1	0	0	0	0
400	2	0	0	3	0	0	0	0
600	2	0	0	4	0	0	0	0
800	2	0	0	6	0	0	0	0
1000	2	0	0	7	0	0	0	0
100	4	0	0	9	16	9	2	0
200	4	0	9	19	33	18	4	0
400	4	0	19	38	66	36	7	0
600	4	0	0	57	0	54	11	0
800	4	0	0	76	0	72	15	0
1000	4	0	0	95	0	90	18	0
100	5	2	0	19	0	31	9	1
200	5	5	0	37	0	63	19	1
400	5	10	0	75	0	126	38	3
600	5	14	0	112	0	188	57	4
800	5	19	0	149	0	251	76	6
1000	5	24	0	186	0	314	94	7
100	6	5	0	30	0	57	19	1
200	6	11	0	61	0	114	38	3
400	6	22	0	122	0	229	77	6
600	6	32	0	183	0	343	115	9
800	6	43	0	244	0	457	153	12
1000	6	54	0	305	0	571	192	15
100	7	8	0	44	0	83	30	2
200	7	16	0	89	0	166	61	4
400	7	33	0	178	0	333	122	9
600	7	49	0	266	0	499	183	13
800	7	66	0	355	0	665	244	17
1000	7	82	0	444	0	832	305	22
100	8	10	0	60	0	107	43	3
200	8	21	0	120	0	214	86	5
400	8	42	0	240	0	428	173	11
600	8	62	0	360	0	642	259	16
800	8	83	0	480	0	856	345	21
1000	8	104	0	600	0	1069	431	26
100	10	12	0	94	0	140	74	3
200	10	24	0	188	0	281	147	6
400	10	49	0	376	0	561	295	11
600	10	73	0	564	0	842	442	17
800	10	97	0	752	0	1122	590	22
1000	10	122	0	939	0	1403	737	28

細胞添加によって PSP の自主規制レベルに達する可能性のあることが分かった。以上のことから、5 月の底層水温はモニタリングの重要なパラメーターとなりえる。たとえば、Saitoh et al. (2011) が提案している衛星情報や現場観測データと数値モデルや海洋 GIS 統合した沿岸漁業情報システムなどで噴火湾の底層水温予測ができれば、シスト由来の栄養細胞による麻痺性貝毒の発生の予測に寄与できるかもしれない。そのためには現在の貝毒プランクトンのモニタリングプログラムにはない堆積物表層のシスト密度に関する情報が必要となる。5 年に 1 回程度は堆積物表層のシスト密度の状況を把握しておくことは重要と考えられる。

噴火湾の海底堆積物中において *A. tamarense* シストが表層以下の層に高密度に分布していることを Fig. 43 に示した。深さ 16~22 cm 層のシスト密度は 0.5~5 cm 層のシスト密度の 3.9 倍の値であった。他方、堆積層と発芽成功率の間には負の直線相関が見られた (Fig. 45)。これらの結果から、発芽活性を維持しているシストの堆積物中の鉛直分布を推定し Fig. 52 に示した。深さ 16~22 cm 層 (29~46 年前) の発芽可能なシスト密度は 0~5 cm 層 (0~3 年前) のシスト密度の 1.4 倍の値であった。この結果は 1960~1980 年代に堆積した高密度のシストが、現在においてもいまだにシードポピュレーションとして機能し、貝毒発生のきっかけのリスクを持つ可能性を示唆している。

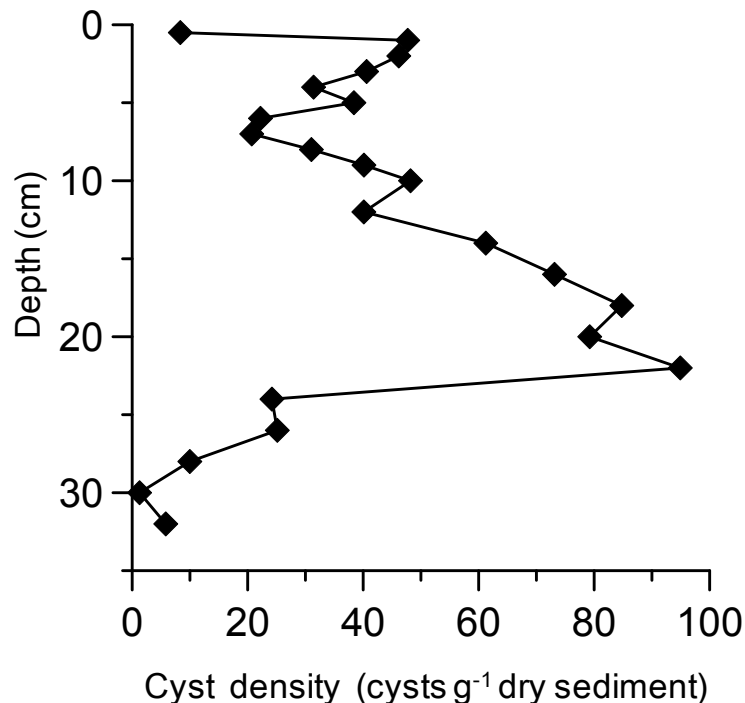


Fig. 52. Vertical distribution of the viable cysts of *A. tamarense* estimated from the cyst density (Fig. 43), and linear regression between sediment depth and germination success of the cysts (Fig. 45).

2011 年 3 月 11 日の東日本大震災では、津波が噴火湾にも押し寄せ、ホタテガイ養殖施設等に甚大な被害を及ぼした。このときの津波は噴火湾の堆積物を大規模に攪乱した可能性がある。2011 年度に実施した貝毒プランクトンのモニタリング結果によると、この年の噴火湾湾口部における *A. tamarense* のブルーム規模が近年の中で最も大きく、ホタテガイの PSP 毒化発生規模も拡大したことが示されている（北海道立総合研究機構・北海道 2012）。東北地方の沿岸域では、1961 年に突然発生した麻痺性貝毒の原因として 1960 年 5 月に東北地方を襲ったチリ大地震由来の津波による可能性が指摘されている（Kawabata et al. 1962）。三陸沿岸の大船渡湾西部海域では 2011 年の麻痺性貝毒（PSP）発生パターンは通常年と同様であったが、津波後に発生した PSP 原因プランクトンが *A. tamarense* のみであったこと、細胞密度から過去最高の大量発生であったこと、天然細胞の毒性が非常に高かったことなどが指摘され、津波との関連については、貝類等フィルターフィーダーの消失、シストの浮上、栄養塩濃度等の環境変化による栄養細胞増加が PSP 高毒化として想定されるものの不明であるとしている（加賀ほか 2012）。2011 年の東日本大震災に伴う津波の影響を仙台湾で調査したところ、表層堆積物中の *A. tamarense* シスト密度が以前の 10 倍以上になっている場所があったことを報告している（水産研究総合センター 2012）。噴火湾においてもこの津波による底質の再懸濁過程を通したシストの表層への集積があったこと、シスト集積によるシードポピュレーション機能増強は 2011 年の春のみに限定されたことを報告している（Natsuike et al., in press）。また、このとき古い年代のシストが表層に運ばれるので水柱に現れる個体群内の遺伝的多様性が高くなる可能性も考えられる。堆積物中に多くのシスト個体群を持つ海域における人為的なドレッジはシスト形成種の個体群動態に大きな影響を及ぼすことが指摘されている（Lundholm et al. 2011）。天災による底質攪乱は防ぎようがないが、噴火湾では、少なくとも人為的なドレッジや浚渫は十分な配慮を要するであろう。

要 約

ホタテガイ垂下養殖が盛んな噴火湾では, *A. tamarense* ブルームに起因する麻痺性貝毒発生によりホタテガイの生鮮出荷が規制され, 計画的生産に大きな障害となることがある. 堆積物中の本種のシストの発芽が, ブルーム形成のための接種機能を持つことは経験的に知られているが, ブルーム形成におけるシストの発芽の貢献度は検討されていなかった. 本研究はその機構を解明し, 本種による麻痺性貝毒の発生予察に向けた基礎資料を得ることを目的として実施した.

噴火湾南西部海域における 1982 年 4 月～2012 年 12 月まで 32 年間の *A. tamarense* ブルームと海洋環境の長期変動を解析した. 大規模ブルーム (最大細胞数 $>5000 \text{ cells L}^{-1}$) は 1982～1995 年の間に 3 回のみ発生し, 1996～2012 年には非ブルーム年 (最大細胞数 $\leq 100 \text{ cells L}^{-1}$) あるいは小規模ブルーム年 ($100 \leq$ 最大細胞数 $<1000 \text{ cells L}^{-1}$) のみが観測されている. *A. tamarense* のブルームには, 3 月に初期個体群の形成, 5 月に最大細胞数への到達, 7 月に消失という概略的な基本パターンがあり, 1980 年代および 1990 年代に比べて 2000 年代のブルーム発生時期は 1 ヶ月程度早くなっている事実が判明した. 水温および塩分にはそれぞれ 3 月と 4 月に経年的な上昇傾向が認められ, これらに伴う環境変化が最近の *A. tamarense* ブルームの時期と発生規模の変化に影響していると考えられた. 大規模ブルーム年 (1984, 1989, 1994) には初期個体群形成 (2, 3 月) に続く密度躍層発達期間 (4, 5 月) が維持されることが共通し, 水柱の鉛直安定度はブルームの発達に重要な要因と考えられた.

培養実験によって *A. tamarense* の増殖に及ぼす光強度, 温度, 日長の影響を調べた. 本種は, 温度 3°C 以上で増殖可能であり, $10\sim 18^{\circ}\text{C}$ は増殖好適範囲と考えられ, この範囲内では増殖速度に大きな差がみられなかった. $3\sim 5^{\circ}\text{C}$ で増殖できることおよび増殖最適温度が $10\sim 18^{\circ}\text{C}$ であることから, 噴火湾産株は寒冷な環境に適応した増殖特性を持つと考えられた.

本種の光強度に対する各増殖パラメーター値は, 水温 $3\sim 10^{\circ}\text{C}$ の間で温度依存的に増加した. 本州産の株に比べて低い光強度に適応していることが明らかとなった. 日長による増殖速度の差は温度 5°C と 10°C のときに大きく, 増殖速度が低い 5°C のときに変化率は最大となった. 本種の光条件に対する増殖特性は高緯度環境に適応したものと考えられた.

現場調査および培養実験によって, *A. tamarense* シストの発芽時期と発芽に及ぼす温度の影響を調べた. 水温と発芽活性の関係は月毎に異なり, 発芽期のシストの発芽活性はおおむね温度が 10°C のとき最大となり, 発芽率が 50% 10-days^{-1} を超える temperature window は $7\sim 18^{\circ}\text{C}$ (それ以上の可能性あり) であ

ることが明らかとなった。本種シストは2月～5月に発芽期、6月～翌年1月に休眠期を持つことが明らかとなった。堆積物表層シストの発芽の周期性は、内因的休眠によって説明することができた。堆積物中（3～12 cm 層）に埋没しているシストもほぼ表層シストと同様の挙動を示し、旧シストの二次休眠によって発芽の周期性維持が維持されていると考えられた。噴火湾の *A. tamarense* シストは、内因的休眠（二次休眠）・外因的休眠および temperature window によって発芽期の周期性を維持していると考えられた。

栄養細胞の増殖特性とシストの発芽特性を用いて、大規模ブルーム年（1984, 1989, 1994）の水温と光環境の観測結果から本種のブルーム動態を推定し、モニタリング結果との対比によって、本種の動態におけるシスト発芽の役割を検討した。シストの発芽および栄養細胞の増殖状況は3つの大規模ブルーム年のケース全てで異なっていた。すなわち、1989年はシストの発芽状況、栄養細胞の増殖活性が共に良かったケース、1984年はシストの発芽状況が悪くてもその後の栄養細胞の増殖活性が高いケース、1994年はシストの発芽状況は良いが、その後の栄養細胞の増殖活性が両年に比べて相対的に高くないケースに区分できた。各年の栄養細胞数の観察結果をシスト発芽、栄養細胞増殖およびその他の要因で配分したところ、1984年にはその他要因による増減が個体群動態に強く影響したが、1989年と1994年にはシスト発芽が初期個体群形成・維持に貢献していたと考えられた。個体群動態に影響するその他要因には複数の物理、化学、生物学的因子が想定された。噴火湾における *A. tamarense* ブルームにとって、シストの発芽は水柱に栄養細胞を接種すること自体に重要な役割があり、その規模が大きいかな否かはブルーム形成に必須ではないと考えられた。

噴火湾沖合域における *A. tamarense* シストの堆積物中の鉛直分布を調べた。噴火湾の沖合堆積物中には本種のシストが広く分布し、表層以下に分布の極大層を持つことが明らかとなった。各地点における堆積速度の違いを考慮すれば、これらの表層以下の分布極大が同時期に形成されたものと考えられた。

培養実験によって、噴火湾最深部における堆積物中の *A. tamarense* シストの生残性を堆積層別に調べた。約100年前に堆積した層から得たシストの一部は発芽が確認された。これは現在のところ本種シスト生残の世界最長記録である。シストの発芽成功率には、堆積物中の保存期間と指数関数的な負の相関が認められ、これは堆積後の時間経過が長くなると耐性が高くなっていることを示唆する。約100年間埋没していたシストは原形質が透明で細胞壁が厚いという特徴を持ち、長期保存によって本種は形態的に堆積物中での貧酸素耐性を高めていると考えられた。

噴火湾の *A. tamarense* の生態戦略は次のように概説できる。*A. tamarense* のシ

シストは嫌気条件下での保存性と生残性が高いため、シードポピュレーションの長期間にわたる維持が可能である。シストの持つ発芽の最適な temperature window は 7~18°C（以上）であるが、内因性休眠により発芽開始期は 3~5°C の時期に設定されていることによりシードポピュレーションの消耗を節約している。栄養細胞は 3~5°C という低水温条件下で増殖でき、かつ弱光条件 (I_0 : 2.7~4.5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$) に適応することで、寒冷な時期に栄養細胞の初期個体群を形成する機会の幅を確保していると考えられる。噴火湾産 *A. tamarense* はこれらの生態的特徴によって、数年~十数年に 1 回の頻度で発生する大規模ブルームで拡大したシードポピュレーションを節約的に消費しながら次のシードポピュレーションの拡大を待つという戦略を有している。

噴火湾西部海域にみられた環境の長期的変化傾向が本種ブルームの形成に及ぼす影響を検討した。3 月の水温の上昇傾向は発芽規模の拡大、4 月の塩分の上昇傾向は栄養細胞の増殖規模の低下に働くと考えられた。噴火湾の本種ブルーム発生の鍵は栄養細胞の増殖の成功により強く依存していると考えられるため、これらの傾向の将来的な持続を仮定すると、当面は本種ブルームの小規模年あるいは非ブルーム年が続くと予想される。

噴火湾においては麻痺性貝毒 (PSP) によるホタテガイの生鮮出荷自主規制の発生日安となる栄養細胞密度は 100 cells L^{-1} であり、シスト発芽由来の栄養細胞密度が 100 cells L^{-1} を超える場合を推定したところ、底層水温が平年より高い年には 5 月のシスト密度が 400 cysts cm^{-3} を超えていれば、シストからの発芽由来の直接的な栄養細胞の水柱への添加によって、PSP の自主規制レベルの密度に達する可能性があることが推定された。こうした可能性を把握するためにモニタリングメニューの中に、5 年に 1 回程度のシスト密度調査を行うことが望ましいと提案できる。

噴火湾の沖合部には発芽能を持つ表層以下のシスト (16~22 cm 層) が表層シスト (0.5~5 cm 層) の約 1.4 倍の密度で分布していた。2011 年の東日本大震災に伴う津波は、噴火湾においても堆積物に埋没しているシストを巻き上げ、表層に選択的濃縮をもたらした。自然現象によるこうした堆積物かく乱は避けようがないが、人為的な浚渫やドレージ等を行う際には、埋没シストの潜在的脅威に十分配慮すべきであろう。

Summary

Contamination of paralytic shellfish poisons (PSP) to bivalves such as scallops, caused by blooms of the toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense*, is a serious economic hardship to the scallop aquaculture industry around Funka Bay where is an important area for the scallop aquaculture in Hokkaido, Japan. It is empirically known that excystment of *A. tamarense* cysts in sediments is important as inoculation for the blooms. However, there is a paucity of information on contribution of the excystment on the bloom formation. For forecast of occurrence of PSP caused by *A. tamarense*, the present study was conducted to understand the biological background of the mechanism of the blooms and a role of the cyst for bloom occurrences.

Long-term fluctuations of *A. tamarense* bloom and oceanographic parameters in southwestern Funka Bay were analyzed for 32 years during April 1982 to December 2012. Large bloom years (maximum cell number > 5000 cells L^{-1}) were observed 3 times in 1982 - 1995, and no bloom years (maximum cell number ≤ 100 cells L^{-1}) and/or small bloom years ($100 < \text{maximum cell number} \leq 1000$ cells L^{-1}) were observed in 1996 - 2012. *A. tamarense* blooms fundamentally have three phases, i.e., the primary population formation in March, the population growth in May, and the population disappearance in July. The bloom period in 2000s shifted one month earlier than in 1980s and 1990s. Yearly increasing trends were confirmed in water temperature in March and salinity in April. The environmental changes with these trends appear to affect the changes in period and magnitude of the recent blooms. The pycnocline development for long period (almost two months) after the primary population formation is thought to be important in the large bloom years (1984, 1989, 1994) indicating that vertical stability of water column is an important factor for the bloom development.

The effects of temperature, light intensity and day length were investigated on the growth of an *A. tamarense* strain isolated from Funka Bay with culture experiments. The Funka Bay strain of *A. tamarense* grew at 3°C and temperature range of 10 - 18°C was suitable for the growth, the strain appears to adapt to cold environments.

The growth parameters of the strain to light intensities showed higher

values in the order of increasing water temperature from 3 to 10°C. The strain more adapted to low light intensities than other Honshu strains of *A. tamarense*. The growth rates were strongly affected by day length in 5 and 10°C. These results suggest that the strain showed an adaptation to high latitude environments.

The correlation between temperature and the excystment activity of *A. tamarense* cysts were examined with the field observations and the culture experiments. The maximum excystment activity was recorded at water temperatures of above 10°C. The temperature window (excystment activity > 50 % 10-days⁻¹) of the cysts was found from 7 to 18°C (possible > 18°C). The excystment period was February - May and the dormant period was June - January, respectively. The seasonally of excystment was observed both cyst populations in surface layers and deeper layers in bottom sediments. The excystment seasonally in the surface layer was explained by an innate dormancy and that in the deeper layer was explained by secondary dormancy which was given to old cysts under quiescence with anoxia conditions.

The sequences of the blooms in large bloom years (1984, 1989 and 1994) were estimated with water temperature, light conditions, growth parameters of the vegetative cells and of excystment characteristics. In 3 large bloom years, the combinations of the extents of excystment and the growth of the vegetative cells were different in each year. The excystment and the growth in 1989 were both active, the excystment was not so active but the growth was rather active in 1984, and the excystment was active but the growth was fair in 1994. The observed vegetative cell numbers were results of processes of the excystment, cell division and others. The excystment was considered evidently to contribute to the formation and maintain of the primary population in 1989 and 1994. From these results, the most important role of the excystment of the cysts was concluded to be the inoculation of vegetative cells into water columns, but the magnitude of the excystment is not so important to form blooms in Funka Bay as compared to the growth of primary populations in water columns.

The vertical distributions of the cysts were examined in offshore sediment cores collected in Funka Bay. The cysts distributed entirely in the sediments and subsurface maximum layers of the cysts abundances were observed in

all the examined cores. These subsurface maximum layers were thought to be formed in the same bloom.

Viabilities of *A. tamarense* cysts were examined from surface to 32 cm depth layer of the sediment core collected at the deepest area in Funka Bay with the culture experiments. Some of the cysts from the sediment which deposited about hundred years ago could germinate. This is the longest record of viability of *A. tamarense* cysts hitherto. A negative exponential correlation was observed between the germination success and deposited period of the cysts. The viability was higher in the newly deposited cysts. The cysts deposited hundred years ago had transparent protoplasm and thicker cell wall. From these results, the old *A. tamarense* cysts in the subsurface sediments considered to have high tolerance ability to anoxia.

The ecological strategies of *A. tamarense* in Funka Bay were summarized as follow. The cysts in deeper sediments have a high viability under anoxia conditions and are able to play a role as seed populations. The cysts have temperature window for vigorous germination (7 - 18°C and/or >18°C), but the excystment period and degree were limited when bottom water temperature was 3 - 5°C with the germination of small portion of cyst populations. The vegetative cells are able to grow under low temperature (3 - 5°C) and low light intensity (I_0 : 2.7 - 4.5 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), and these features are helpful for establishing primary populations in cold period. The large scale blooms which occur every several years and/or decades enlarge abundance of cyst populations, however, small scale blooms or no bloom reduce the abundance of cysts in sediments.

The influence of long-term trends of water temperature and salinity was examined in western area of Funka Bay in relation to formation of the blooms. The increasing trend of water temperature in March, and the increasing trend of salinity in April were found and the former trend affects the scale of excystment and the latter does reduction in growth rate of the vegetative cells, respectively. The key of the toxic blooms in Funka Bay is the success of the growth of the vegetative cells rather than excystment. Thus if these trends continue, the magnitudes of the blooms are expected to be small and /or failure in the future years.

A hundred cells L^{-1} of the vegetative cell density in water column is an indicator of the control of scallop shipments by paralytic shellfish poisoning

caused by *A. tamarense* blooms in Funka Bay. The vegetative cell density of 100 cells L⁻¹ or more in water columns can be attained by the direct excystment with higher bottom water temperature than the 32 year average (1982 - 2012) and the cyst density in May of over 400 cysts cm⁻³ in sediments. It is proposed that to monitor the cyst population in every five years would contribute to predict the occurrences of toxin contaminations to scallops.

The density of viable cysts in subsurface layer (16 - 22 cm layer) is about 1.4 times magnitude of that in surface layer (0.5 - 5 cm layer) in sediments of offshore of Funka Bay. Tsunami resuspended cysts and selectively concentrated the cysts in surface sediments in Funka Bay when the Tohoku Earthquake occurred in March 2011. These highly concentrated cyst populations in surface sediments endangers the occurrences of the toxic blooms by *A. tamarense*. We need to pay more attentions and to monitor *A. tamarense* in Funka Bay.

謝 辞

本研究の遂行およびとりまとめにあたり，終始懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました北海道大学大学院今井一郎教授に深甚なる感謝の意を表します．本論文についてのご助言とご校閲の労を賜りました北海道大学大学院久万健志教授，斎藤誠一教授，工藤勲准教授，山口篤准教授に衷心より感謝いたします．

本研究の機会を与えて下さり，懇切なるご指導と暖かい励ましをいただきました地方独立行政法人北海道立総合研究機構中央水産試験場長鳥澤雅博士，網走水産試験場長野俣洋氏に衷心より感謝いたします．

私のプランクトン研究のきっかけをつくり，研究の基礎を支えていただきました北海道大学名誉教授箕田嵩博士，三重大学名誉教授河村章人博士，函館短期大学教授志賀直信博士に深く感謝いたします．

元独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所山口峰生博士にはシストの蛍光染色法ならびシスト調査・分析法をご教授いただきました．東京大学名誉教授福代康夫博士にはシストの発芽活性に関する研究についてご教示を賜りました．三重大学教授石川輝博士には堆積物中シストの発芽能に関する研究についてご指導とご助言を賜りました．ここに記して衷心より感謝いたします．

元北海道立栽培水試場長，故西浜雄二博士，地方独立行政法人北海道立総合研究機構中央水産試験場の馬場勝寿博士はじめ北海道貝毒プランクトンモニタリングに携わった職員の皆様に感謝いたします．八雲におけるフィールド調査ならびにシスト調査に協力していただきました地方独立行政法人北海道立総合研究機構中央水産試験場の嶋田宏氏に深謝いたします．*A. tamarense* の分子同定を分担して頂いた独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所長井敏博士，底質コアサンプリング技術の指導および堆積物コアの火山灰法による年代測定を分担していただいた地方独立行政法人北海道立総合研究機構地質研究所仁科健二氏には本研究の遂行にあたり，ご助言とご鞭撻を賜りました．心から厚くお礼申し上げます．

培養試験を行うに当たり地方独立行政法人北海道立総合研究機構中央水産試験場資源管理部海洋環境グループの皆様にはご協力をいただきました．フィールド調査を実施するにあたり，コアサンプル採集等でご協力頂いた地方独立行政法人北海道立総合研究機構函館水産試験場奥村裕弥博士および成田治彦元船長以下金星丸船員各位に感謝いたします．

最後に，私の研究を終始献身的に支えてくれた妻，宏美に感謝します．

引用文献

- Abe, Y., Natsuike, M., Matsuno, K., Terui, T., Yamaguchi, A. and Imai, I., 2013: Variation in assimilation efficiencies of dominant *Neocalanus* and *Eucalanus* copepods in the subarctic Pacific: Consequences for population structure models. *J. Exp. Marine Biol. Ecol.*, **449**, 321-329.
- Anderson, D. M., 1980: Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypozygotes. *J. Phycol.*, **16**, 166-172.
- Anderson, D. M., 1984: Shellfish toxicity and dormant cysts in toxic dinoflagellate blooms. In “*Seafood Toxins*” (ed. by E. P. Ragelis), American Chemical Society, Washington D.C., 125-138.
- Anderson, D. M., 1998: Physiology and bloom dynamics of toxic *Alexandrium* species, with emphasis of life cycle transitions. In “*Physiological Ecology of Harmful Algal Blooms*” (eds. by D. M. Anderson, A. D. Cembella and G. M. Hallegraeff), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 29-48.
- Anderson, D. M. and Keafer, B. A., 1985: Dinoflagellate cyst dynamics in coastal and estuarine waters. In “*Toxic Dinoflagellates*” (eds. by D. M. Anderson, A. W. White and D. G. Baden), Elsevier, New York Amsterdam, 219-224.
- Anderson, D. M. and Keafer, B. A., 1987: An endogenous annual clock in the toxic marine dinoflagellate *Gonyaulax tamarensis*. *Nature*, **325**, 616-617.
- Anderson, D. M. and Morel, F. M. M., 1979: The seeding of two red tide blooms by the germination of benthic *Gonyaulax tamarensis* hypnocyts. *Est. Coast. Mar. Sci.*, **8**, 279-293.
- Anderson, D. M. and Wall, D., 1978: Potential importance of benthic cysts of *Gonyaulax tamarensis* and *G. excavata* in initiating toxic dinoflagellate blooms. *J. Phycol.*, **14**, 224-234.
- Anderson, D. M., Aubrey, D. G., Tyler, M. A. and Coats, D. W., 1982: Vertical and horizontal distributions of dinoflagellate cysts in sediments. *Limnol. Oceanogr.*, **27**, 757-765.
- Anderson, D. M., Chisholm, S. W. and Watras, C. J., 1983: Importance of life cycle events in the population dynamics of *Gonyaulax tamarensis*. *Mar. Biol.*, **76**, 179-189.
- Anderson, D. M., Taylor, C. D. and Armbrust, E. V., 1987: The effects of darkness and anaerobiosis on dinoflagellate cyst germination. *Limnol. Oceanogr.*, **32**, 340-351.
- Anderson, D. M., Alpermann, T. J., Cembella, A. D., Collos, Y., Masseret, E. and

- Montresor, M., 2012: The globally distributed genus *Alexandrium*: Multifaceted roles in marine ecosystems and impacts on human health. *Harmful Algae*, **14**, 10-35.
- Appleby, P. G. and Oldfield, F., 1978: The calculation of lead-210 dates assuming a constant rate of supply of unsupported ^{210}Pb to the sediments. *Catena*, **5**, 1-8.
- Asakawa, M., Miyazawa, K., Takayama, H. and Noguchi, T., 1995: Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* as the source of paralytic shellfish poison (PSP) contained in bivalves from Hiroshima Bay, Hiroshima Prefecture, Japan. *Toxicon*, **33**, 691-697.
- Balech, E., 1995: The Genus *Alexandrium* Halim (Dinoflagellata). Sherkin Island Marine Station, Sherkin Island, Co. Cork, Ireland, 1-151.
- 伴修平 2000: 珪藻ブルーム前後の捕食食物連鎖と微生物食物連鎖 沿岸海洋研究, **38**, 23-28.
- Ban, S., Burns, C., Castel, J., Chaudron, Y., Christou, E., Escibano, R., Umani, S. F., Gasparini, S., Ruiz, F. G., Hoffmeyer, M., Ianora, A., Kang, H. -K., Laabir, M., Lacoste, A., Miralto, A., Ning, X., Poulet, S., Rodriguez, V., Runge, J., Shi, J., Starr, M., Uye, S. and Wang, Y., 1997: The paradox of diatom-copepod interactions. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **157**, 287-293.
- Binder, B. J. and Anderson, D. M., 1986: Green light mediated photo morphogenesis in a dinoflagellate resting cyst. *Nature*, **322**, 659-661.
- Binder, B. J. and Anderson, D. M., 1990: Biochemical composition and metabolic activity of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae) resting cysts. *J. Phycol.*, **26**, 289-298.
- Blackburn, S. I., Hallegraeff, G. M. and Bolch, C. J., 1989: Vegetative reproduction and sexual life cycle of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* from Tasmania, Australia. *J. Phycol.*, **25**, 577-590.
- Blanco, J., 1990: Cyst germination in two dinoflagellate species from Galicia (NW Spain). *Sci. Mar.*, **54**, 287-291.
- Bolch, C. J. S. and de Salas, M. F., 2007: A review of the molecular evidence for ballast water introduction of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* and the *Alexandrium* “*tamarensis* complex” to Australia. *Harmful Algae*, **6**, 465-485.
- Brand, L. E., Guillard, R. R. and Murphy, L. S., 1981: A method for the rapid and precise determination of acclimated phytoplankton reproduction rates. *J. Plankton Res.*, **3**, 193-201.

- Cannon, J., 1993: Germination of the toxic dinoflagellate, *Alexandrium minutum* from sediments of the Port River, South Australia. In “*Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*” (eds. by T. J. Smyda and Y. Shimizu), Elsevier, Amsterdam, 103-112.
- 地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道, 2011: 平成 22 年度 (2010) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, <http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/j12s220000000dgw-att/j12s220000000e0d.pdf>, 1-33.
- 地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道, 2012: 平成 23 年度 (2011) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, <http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/j12s220000000dgw-att/j12s220000000dix.pdf>, 1-33.
- 地方独立行政法人北海道立総合研究機構・北海道, 2013: 平成 24 年度 (2012) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, <http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/j12s220000000dgw-att/tkh4vd0000003j5e.pdf>, 1-36.
- Dale, B., 1983: Dinoflagellate resting cysts: ‘benthic plankton’. In “*Survival Strategies of the Algae*” (ed. by G. A. Fryxell), Cambridge University Press, Cambridge, 69-134.
- Dale, B. and Yentsch, C. M., 1978: Red tide and paralytic shellfish poisoning. *Oceanous*, **21**, 41-49.
- Dale, B., Yentsch, C. M. and Hurst, J. W., 1978: Toxicity in resting cysts of the red tide dinoflagellate *Gonyaulax excavata* from deeper water coastal sediments. *Science*, **201**, 1223-1225.
- Dale, B., Madsen, A., Nordberg, K. and Thorsen, T. A., 1993: Evidence for prehistoric and historic “bloom” of the toxic dinoflagellate *Gymnodinium catenatum* in the Kattegat-Skagerrak region of Scandinavia. In “*Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*” (eds. by T. J. Smyda and Y. Shimizu), Elsevier, Amsterdam, 47-52.
- 土肥和彦 1982: 噴火湾における有鐘類の季節変化. 日本プランクトン学会報, **29**, 77-87.
- Dyhrman, S. T. and Anderson D. M., 2003: Urease activity in cultures and field populations of the toxic dinoflagellate *Alexandrium*. *Limnol. Oceanogr.*, **48**, 647-655.
- Enosawa, M., Kageyama, S., Sawai, K., Watanabe, K., Notomi, T., Onoe, S., Mori, Y. and Yokomizo, Y., 2003: Use of loop-mediated isothermal amplification of the IS900 sequence for rapid detection of cultured *Mycobacterium avium* subsp.

- paratuberculosis*. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 4359-4365.
- Fauchot, J., Levasseur, M. and Roy, S., 2005: Daytime and nighttime vertical migrations of *Alexandrium tamarense* in the St. Lawrence estuary (Canada). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **296**, 241-250.
- Figuerola, R. I., Bravo, L. and Garces, E., 2005: Effects of nutritional factors and different parental crosses on the encystment and excystment of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in culture. *Phycologia*, **44**, 658-670.
- 福代康夫, 1980: 有毒プランクトンの休眠胞子に関する研究. 「昭和 54 年度水産庁漁業公害委託調査費全国総点検調査報告書」(北海道編), 北海道, 札幌, 27-33.
- 福代康夫, 2000: 有毒プランクトンによる漁業被害の現状と研究の問題点. 「有害・有毒赤潮の発生と予知・防除」(石田祐三郎・本城凡夫・福代康夫・今井一郎編), 日本水産資源保護協会, 東京, 18-28.
- Genovesi, B., Laabir, M., Masseret, E., Collos, Y., Vaquer, A. and Grzebyk, D., 2009: Dormancy and germination features in resting cysts of *Alexandrium tamarense* species complex (Dinophyceae) can facilitate bloom formation in a shallow lagoon (Thau, southern France). *J. Plankton Res.*, **31**, 1209-1224.
- Genovesi, B., Laabir, M. and Vaquer, A., 2006: The benthic resting cyst: a key factor in harmful dinoflagellate blooms – a review. *Vie et Milieu – Life and Environment*, **56**, 327-337.
- Hallegraeff, G. M., 1993: Phycological Reviews 13 A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. *Phycologia*, **32**, 79-99.
- Hansen, P. J., 1989: The red tide dinoflagellate *Alexandrium tamarense*: effects on behavior and growth of a tintinnid ciliate. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **53**, 105-116.
- Hansen, P. J., Cembella, A. D. and Moestrup, Ø., 1992: The marine dinoflagellate *Alexandrium ostenfeldii*: paralytic shellfish toxin concentration, composition, and toxicity to a tintinnid ciliate. *J. Phycol.*, **28**, 597-603.
- Hansen, P. J., Bjørnsen, P. K. and Hansen, B. W., 1997: Zooplankton grazing and growth: scaling within the 2-2000- μ m body size range. *Limnol. Oceanogr.*, **42**, 687-704.
- 長谷川伸彦・磯田豊, 1997: 噴火湾の水収支. 海と空, **73**, 114-121.
- Hashimoto, Y., Noguchi, T. and Adachi, R., 1976: Occurrence of Toxic Bivalves in Association with the Bloom of *Gonyaulax* sp. in Owase Bay. *Bull. Japan Sci. Fish.*, **42**, 671-676.
- 林忠彦, 1989: ホタテガイの貝毒. 北水試だより, **6**, 8-15.

林忠彦, 1990: ホタテガイの貝毒 (2) . 北水試だより, 7, 8-15.

Heaney, S. I., Chapman, D. V. and Morison, H. R., 1983: The role of cyst stage in the seasonal growth of the dinoflagellate *Ceratium hirundinella* within a small productive lake. *Br. Phycol. J.*, **18**, 47-59.

北海道, 1982: 昭和 56 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-67.

北海道, 1983: 昭和 57 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-64.

北海道, 1984: 昭和 58 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-41.

北海道, 1985: 昭和 59 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-46.

北海道, 1986: 昭和 60 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-44.

北海道, 1987: 昭和 61 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-76.

北海道, 1988: 昭和 62 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-107.

北海道, 1989: 昭和 63 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-97.

北海道, 1990: 平成元年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-144.

北海道, 1991: 平成 2 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-139.

北海道, 1992: 平成 3 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-122.

北海道, 1993: 平成 4 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-126.

北海道, 1994: 平成 5 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-126.

北海道, 1995: 平成 6 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-122.

北海道, 1996: 平成 7 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-53.

北海道, 1998 平成 8 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-52.

北海道, 1999 平成 9 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-47.

北海道, 2000: 平成 10 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-41.

北海道, 2001: 平成 11 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-52.

北海道, 2002: 平成 12 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-38.

北海道, 2003: 平成 13 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-34.

北海道, 2004: 平成 14 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-39.

北海道, 2005: 平成 15 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-37.

北海道, 2006: 平成 16 年度赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書, 札幌, 1-136.

北海道, 2007: 平成 17, 18 年度 (2005, 2006) 赤潮・特殊プランクトン予察調査

報告書 (2 年間の拡大調査の総括) , <http://www.fishexp.hro.or.jp/>

[cont/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s2200000000dgw-att/](http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s2200000000dgw-att/)

[j12s2200000000e0u.pdf](http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s2200000000e0u.pdf), 1-91.

北海道, 2008: 平成 19 年度 (2007) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書,

<http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyoku/kaidoku/>

[j12s2200000000dgw-att/j12s2200000000e0q.pdf](http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyoku/kaidoku/j12s2200000000dgw-att/j12s2200000000e0q.pdf), 1-37.

- 北海道, 2009: 平成 20 年度 (2008) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書,
[http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/
j12s220000000dgw-att/j12s220000000e0m.pdf](http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/j12s220000000dgw-att/j12s220000000e0m.pdf), 1-32.
- 北海道, 2010: 平成 21 年度 (2009) 赤潮・特殊プランクトン予察調査報告書,
[http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/
j12s220000000dgw-att/j12s220000000e0i.pdf](http://www.fishexp.hro.or.jp/cont/central/section/kankyou/kaidoku/j12s220000000dgw-att/j12s220000000e0i.pdf), 1-33.
- 北海道立水産試験場, 2000: 北海道沿岸における貝毒の研究 (貝毒プロジェクト
報告書) . 北海道立水産試験場技術資料 3, 1- 69.
- 北海道水産部, 1982: 昭和 55 年度北海道水産現勢 (北海道水産部水産振興計画
課編) , 北海道水産部, 札幌, 1-256.
- 北海道水産部, 1983: 昭和 56 年度北海道水産現勢 (北海道水産部水産振興計画
課編) , 北海道水産部, 札幌, 1-302.
- 北海道水産部, 1984: 昭和 57 年度北海道水産現勢 (北海道水産部水産振興計画
課編) , 北海道水産部, 札幌, 1-318.
- 北海道水産部, 1985: 昭和 58 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-310.
- 北海道水産部, 1986: 昭和 59 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-306.
- 北海道水産部, 1987: 昭和 60 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-256.
- 北海道水産部, 1988: 昭和 61 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-374.
- 北海道水産部, 1989: 昭和 62 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-374.
- 北海道水産部, 1989: 昭和 63 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-438.
- 北海道水産部, 1990: 平成元年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-437.
- 北海道水産部, 1992: 平成 2 年度北海道水産現勢 (北海道水産部漁政課編) , 北
海道水産部, 札幌, 1-437.
- 北海道水産林務部, 2012: 平成 5 年～平成 22 年度北海道水産現勢, 北海道水産
林務部総務課 (編) , [http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/sum/kcs/indexfiles/
sui-toukei/suitoukei.htm](http://www.pref.hokkaido.lg.jp/sr/sum/kcs/indexfiles/sui-toukei/suitoukei.htm)
- 北海道火山灰命名委員会, 1979: 北海道の火山灰分布図・60 万分の 1. 火山灰
命名委員会, 札幌, 1-22.

- 北海道ほたて流通食品協会, 2011: ほたて加工必携ハンドブック (平成 22 年度改訂版). 北海道ほたて流通食品協会, 札幌, 1-208.
- Hollibaugh, J. T., Seibert, D. R. L. and Thomas, W. H., 1981: Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) species. *J. Phycol.*, **17**, 1-9.
- 本多照幸・木村賢一郎・森本隆夫・鈴木穎介, 2002: 噴火湾海底堆積物の Pb-210 堆積速度とその特徴. フィッショントラックニュースレター, **15**, 40-42.
- 本多照幸・木村賢一郎・森本隆夫・鈴木穎介, 2003: 噴火湾海底堆積物の鉛 210 堆積年代と昭和新山の形成. フィッショントラックニュースレター, **16**, 31-33.
- 一見和彦・山崎誠・鈴木敏之, 2000: 宮城県沿岸における *Alexandrium* 属シストの分布. 東北区水産研究所研究報告, **63**, 119-124.
- 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. 南西水研研報, **23**, 63-166.
- 今井一郎, 2012: シャトネラ赤潮の生物学. 生物研究社, 東京, 1-171.
- 今井一郎・板倉茂, 2007: 1. 我が国における貝毒発生の歴史的経過と水産業への影響. 「日本水産学会 (監) 水産学シリーズ 153 貝毒研究の最先端一現状と展望」(今井一郎・福代康夫・広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京, 9-18.
- 今井一郎・板倉茂・大内晟, 1993: 北部広島湾における *Chattonella* 赤潮の発生と海底泥中のシストの挙動. 日本水産学会誌, **59**, 1-6.
- Imai, I., Yamaguchi, M. and Hori, Y., 2006: Eutrophication and occurrences of harmful algal blooms in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Benthos Res.*, **1**, 71-84.
- Ishida, M. and Sonoda, Y., 2003: Blooming of *Alexandrium tamarense* and increasing of toxicity of short-necked-clam in Mikawa Bay. *Bull. Aichi Fish. Res. Ins.*, **10**, 25-36.
- Ishikawa, A. and Taniguchi, A., 1996: Contribution of benthic cysts to the population dynamics of *Scrippsiella* spp. (Dinophyceae) in Onagawa Bay, North-east Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **140**, 169-178.
- Ishikawa, A. and Taniguchi, A., 1997: In situ germination patterns of cysts, and bloom formation of some armored dinoflagellates in Onagawa Bay, north-east Japan. *J. Plankton Res.*, **19**, 1783-1791.
- Ishikawa, A., Fujita, N. and Taniguchi, A., 1995: A sampling device to measure in situ germination rates of dinoflagellate cysts in surface sediments. *J. Plankton Res.*, **17**,

- 647-651.
- Ishikawa, A., Hattori, M. and Imai, I., 2007: Development of the “plankton emergence trap/chamber (PET Chamber)”, a new sampling device to collect in situ germinating cells from cysts of microalgae in surface sediments of coastal waters. *Harmful Algae*, **6**, 301-307.
- 石丸隆, 1985: II. 貝毒プランクトンの生物学, 4. 増殖と環境要因. 「貝毒プランクトン-生物学と生態学」(福代康夫編), 恒星社厚生閣, 東京, 40-46.
- 磯田豊・竹山洋平・東屋知範, 2000: 噴火湾における珪藻ブルーム前後の海洋構造変化. 沿岸海洋研究, **38**, 3-14.
- 板倉茂, 2007: 7. 現場海域における *Alexandrium* 属の個体群動態. 「貝毒研究の最先端－現状と展望」(今井一郎・福代康夫・広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京, 76-84.
- Itakura, S. and Yamaguchi, M., 2001: Germination characteristics of naturally occurring cysts of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Hiroshima Bay, Inland Sea of Japan, *Phycologia*, **40**, 263-267.
- Itakura, S. and Yamaguchi, M., 2005: Morphological and physiological differences between the cysts of *Alexandrium catenella* and *A. tamarense* (Dinophyceae) in the Seto Inland Sea, Japan. *Plankton Biol. Ecol.*, **52**, 85-91.
- Itakura, S., Yamaguchi, M., Yoshida, M. and Fukuyo, Y., 2002: The seasonal occurrence of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) vegetative cells in Hiroshima Bay, Japan. *Fisheries Sci.*, **68**, 77-86.
- Ives, J. D., 1985: The relationship between *Gonyaulax tamarensis* cell toxin levels and copepod ingestion rates. In "Toxic Dinoflagellates" (eds. by D. M. Anderson, A. W. White and D. G. Baden), Elsevier, New York Amsterdam, 413-418.
- Ives, J. D., 1987: Possible mechanisms underlying copepod grazing responses to levels of toxicity in red tide dinoflagellates. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **112**, 131-145.
- 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**, 46-56.
- Jeong, H. J., Yoo, Y. D., Kim, J. S., Seong, K. A., Kang, N. S. and Kim, T. H., 2010: Growth, feeding and ecological roles of the mixotrophic and heterotrophic dinoflagellates in marine Planktonic food webs. *Ocean Sci. J.*, **45**, 65-91.
- Jones, S. E. and Lennon, J. T., 2010. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 5881-5886.
- 加賀新之助・渡邊龍一・長井敏・神山孝史・鈴木敏之, 2012: 東日本大震災後

- の岩手県大船渡湾における *Alexandrium tamarense* による貝類の毒化. 月刊海洋, **44**, 321-327.
- 海洋気象台, 1934: 噴火湾海洋観測報告. 海洋時報, **6**, 209-241.
- Kamiyama, T., Tsujino, M., Matsuyama, Y. and Uchida, T., 2005: Growth and grazing rates of the tintinnid ciliate *Favella taraikaensis* on the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Mar. Biol.*, **147**, 989-997.
- 金子孝・水島敏博・西田芳則・嶋田宏, 1993: 噴火湾シスト分布調査. 平成3年度北海道立函館水産試験場事業報告書, 362-372.
- 金子孝・水島敏博・西田芳則・嶋田宏, 1994: 噴火湾マヒ性貝毒プランクトンシスト分布調査. 平成4年度北海道立函館水産試験場事業報告書, 290-298.
- 金子孝・嶋田宏・西田芳則・伊藤義三, 1995: 噴火湾マヒ性貝毒プランクトンシスト分布調査. 平成5年度北海道立函館水産試験場事業報告書, 259-269.
- 環境庁水質保全局, 1977: 「有毒プランクトンによる貝類の毒化に関する総合的研究」報告書, 環境庁水質保全局, 東京, 1-305.
- 柏村正和, 1963: 噴火湾内の沿岸流. 海洋学会誌, **16**, 1-5.
- Kawabata, T., Yoshida, T. and Kubota, T., 1962: Paralytic shellfish poison-I. A note on the shellfish poisoning occurred in Ofunato City, Iwate Prefecture in May, 1961. *Bull Jpn Soc. Sci. Fish.*, **28**, 344-351.
- Kawasaki, T., 2002: Climate change, regime shift and stock management, *Fish. Sci.*, **68**, Supplement I.
- Keafer, B. A., Buesseler, K. O. and Anderson, D. M., 1992: Burial of living dinoflagellate cysts in estuarine and nearshore sediments. *Mar. Micropaleontol.*, **20**, 147-161.
- Kim, YO and Han, MS, 2000: Seasonal relationships between cyst germination and vegetative population of *Scrippsiella trochoidea* (Dinophyceae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **204**, 111-118.
- Kim, YO, Park, MH and Han, MS, 2002: Role of cyst germination in the bloom initiation of *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Masan Bay, Korea. *Aquat. Microb. Ecol.*, **29**, 279-286.
- 気象庁, 1996: 地上気象観測毎時月表 2月～7月.
- 気象庁, 1997: 地上気象観測毎時月表 2月～7月.
- 気象庁, 1998: 地上気象観測毎時月表 2月～7月.
- 国立天文台, 1996: 理科年表机上版 (国立天文台編), 丸善, 東京, 1-1043.
- Kremp, A. and Anderson, D. M., 2000: Factors regulating germination of resting cysts of the spring bloom dinoflagellate *Scrippsiella hangoei* from the northern Baltic

- Sea. *J. Plankton Res.*, **22**, 1311-1327.
- Kudo, I. and Matsunaga, K., 1999: Environmental factors affecting the occurrence and production of the spring phytoplankton bloom in Funka Bay, Japan. *J. Oceanogr.*, **55**, 505-513.
- 工藤勲・宮園章・嶋田宏・磯田豊, 2005: 噴火湾における低次生産過程と貝毒プランクトンの中長期変動. 沿岸海洋研究, **43**, 33-38.
- Langdon, C., 1987: On the causes of interspecific differences in the growth-irradiance relationship for phytoplankton. Part-I. A comparative study of the growth irradiance relationship of three marine phytoplankton species: *Skeletonema costatum*, *Olisthodiscus luteus* and *Gonyaulax tamarensis*. *J. Plankton Res.*, **9**, 459-482.
- Larsen, J., Kuosa, H., Ikavalko, J., Kivi, K. and Hallfors, S., 1995: A redescription of *Scrippsiella hangoei* (Schiller) comb. nov. – a ‘red tide’ forming dinoflagellate from the northern Baltic. *Phycologia*, **34**, 135-144.
- Lederman, T. C. and Tett, P., 1981: Problems in modeling the photosynthesis-light relationship for phytoplankton. *Bot. Mar.*, **24**, 125-134.
- Lewis, N. I., Xu, W., Jericho, S. K., Kreuzer, H. J., Jericho, M. H. and Cembella, A. D., 2006: Swimming speed of three species of *Alexandrium* (Dinophyceae) as determined by digital in-line holography. *Phycologia*, **45**, 61-70.
- Lilly, E. L., Kulis, D. M., Gentien, P. and Anderson, D. M., 2002: Paralytic shellfish poisoning toxins in France linked to a human-introduced strain of *Alexandrium catenella* from the western Pacific: evidence from DNA and toxin analysis. *J. Plankton Res.*, **24**, 443-452.
- Liu, S. and Wang, W. -X., 2002: Feeding and reproductive responses of marine copepods in South China Sea to toxic and nontoxic phytoplankton. *Mar. Biol.*, **140**, 595-603.
- Lundholm, N., Clarke, A. and Ellegaard, M., 2010: A 100-year record of changing *Pseudo-nitzschia* species in a sill-fjord in Denmark related to nitrogen loading and temperature. *Harmful Algae*, **9**, 449-457.
- Lundholm, N., Riverio, S., Andersen, T. J., Koch, T., Godhe, A., Ekelund, F. and Ellegaard, M., 2011: Buried alive - germination of up to a century-old marine protest resting stages. *Phycologia*, **50**, 629-640.
- 町田洋・新井房夫, 1992: 火山灰アトラス [日本列島とその周辺]. 東京大学出版会, 東京, 1-276.
- MacIntyre, J. G., Cullen, J. J. and Cembella A. D., 1997: Vertical migration, nutrition

- and toxicity in the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **148**, 201-216.
- 松本英二・富樫茂子, 1980: 噴火湾における堆積速度. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **35**, 261-267.
- McQuoid, M. R., Godhe, A. and Nordberg, K., 2002: Viability of phytoplankton resting stages in the sediments of a coastal Swedish fjord. *Eur. J. Phycol.*, **37**, 191-201.
- Minobe, S., 1997: A 50-70 year climatic oscillation over the North Pacific and North America. *Geophys. Res. Lett.*, **24**, 683-686.
- 宮園章・嶋田宏, 2000: 珪藻ブルーム後に出現する渦鞭毛藻の増殖と環境要因. 沿岸海洋研究, **38**, 29-38.
- Mizushima, K. and Matsuoka, K., 2004: Vertical distribution and germination ability of *Alexandrium* spp. cysts (Dinophyceae) in the sediments collected from Kure Bay of the Seto Inland Sea, Japan. *Phycological Research*, **52**, 408-413.
- Mori, M., Mimori, K., Masuda, T., Yoshinaga, K., Yamashita, K., Matsuyama, A. and Inoue, H., 2001: Absence of Msh2 protein expression is associated with alteration in the FHIT locus and Fhit protein expression in colorectal carcinoma. *Cancer Res.*, **61**, 7379-7382.
- 村山雅史・成田尚史・佐藤昌泰・中村俊夫, 1998: 噴火湾コア (ST.30) の堆積年代とその意義. 名古屋大学加速器質量分析計業績報告書, **9**, 228-235.
- 室蘭地区水産技術普及指導所, 1993: 噴火湾胆振海区ホタテガイ養殖漁場環境調査報告書, 1-87.
- 長井敏, 2007: 8. *Alexandrium* 属の個体群構造と分布拡大要因の解明. 「貝毒研究の最先端－現状と展望」(今井一郎・福代康夫・広石伸互編), 恒星社厚生閣, 東京, 85-99.
- Nagai, S. and Itakura, S., 2012: Specific detection of the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella* from single vegetative cells by a loop-mediated isothermal amplification method. *Marine Genomics*, **7**, 43-49.
- Nagai, S., Matsuyama, Y., OH, S. and Itakura, S., 2004: Effect of nutrients and temperature on encystment of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) isolated from Hiroshima Bay, Japan. *Plankton Biol. Ecol.*, **51**, 103-109.
- Nagai, S., Lian C. L., Yamaguchi, S., Hamaguchi, M., Matsuyama, Y., Itakura, S., Shimada, H., Kaga, S., Yamauchi, H., Sonda, Y., Nishikawa, T., Kim, C. H. and

- Hogetsu, T., 2007: Microsatellite markers reveal population genetic structure of the toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Dinophyceae) in Japanese coastal waters. *J. Phycol.*, **43**, 43-54.
- Nagai, S., Yamamoto, K., Hata, N. and Itakura S., 2012: Study of DNA extraction methods for use in loop-mediated isothermal amplification detection of single resting cysts in the toxic dinoflagellates *Alexandrium tamarense* and *A. catenella*. *Marine Genomics*, **7**, 51-56.
- Nakamura, Y., Suzuki, S. and Hiromi, J., 1995: Population dynamics of heterotrophic dinoflagellates during a *Gymnodinium mikimotoi* red tide in the Seto Inland Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **125**, 269-277.
- Nakamura, Y., Suzuki, S. and Hiromi, J., 1996: Development and collapse of a *Gymnodinium mikimotoi* red tide in the Seto Inland Sea. *Aquat. Microb. Ecol.*, **10**, 131-137.
- 中村有吾・平川一臣, 2004: 北海道駒ヶ岳起源の広域テフラ, 駒ヶ岳 g テフラの分布と噴出年代. 第四紀研究, **43**, 189-200.
- Natsuike, M., Nagai, S., Matsuno, K., Saito, R., Tsukazaki, C., Yamaguchi, A. and Imai, I., 2013: Abundance and distribution of toxic *Alexandrium tamarense* resting cysts in the sediments of the Chukchi Sea and the eastern Bering Sea. *Harmful Algae*, **27**, 52-59.
- Natsuike, M., Kanamori, M., Baba, K., Moribe, K., Yamaguchi, A. and Imai, I. in press. Changes in abundances of *Alexandrium tamarense* resting cysts after the tsunami caused by the Great East Japan Earthquake in Funka Bay, Hokkaido, Japan. *Harmful Algae*, in press.
- 二平章, 2007: 第 5 章 レジーム・シフトと底魚資源. レジーム・シフトー気候変動と生物資源管理ー」(川崎健・花輪公雄・谷口旭・二平章編著), 成山堂書店, 東京, 157-173.
- 西浜雄二, 1982: 噴火湾湾口鹿部沖におけるクロロフィル量の季節変化に関する 10 年の観測, 1973-1982. 水産海洋研究会報, **41**, 62-64.
- 西浜雄二, 2000: 研究の流れと目標. 北海道立水産試験場技術資料, **3**, 1-4.
- 西浜雄二・佐藤七七朗, 1981: 1980 年噴火湾砂原沖における有毒渦鞭毛藻プロトゴニオラックス (*Protogonyaulax* sp.) の季節消長とホタテガイの毒化. 北水試月報. **38**, 321-329.
- 西浜雄二・岩崎良教・金子実・広海十朗 1976: 噴火湾鹿部沖における海洋条件および動植物プランクトンの季節変化, 特に栄養塩類と植物プランクトンの増殖との関係. 北水試月報, **33**, 1-22.

- 西浜雄二・内田卓志・佐藤七七朗, 1979: 1978 年噴火湾産養殖ホタテガイ毒化の原因プランクトン（ゴニオラックス・カテナラ類似種）について. 北水試月報, **36**, 65-74.
- 西浜雄二・高杉新弥・佐藤七七朗, 1980: 1979 年噴火湾における有毒渦鞭毛藻プロトゴニオラックス (*Protogonyaulax* sp.) の消長とホタテガイによる麻痺性貝毒の蓄積とその減少. 北水試月報, **37**, 105-113.
- Noguchi, T., Asakawa, M., Arakawa, O., Fukuyo, Y., Nishio, S., Tanno, K. and Hashimoto, K., 1990: First occurrence of *Alexandrium catenella* in Funka Bay, Hokkaido, along with its unique toxin composition. In “*Toxic Marine Phytoplankton*” (eds. by E. Granéli, B. Sundström, L. Edler and D. M. Anderson), Elsevier, Amsterdam, 493-498.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. and Hase, T., 2000: Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.*, **28**, e63.
- 小達恒夫 1990: 噴火湾における微小動物プランクトン群集の摂食量の見積. 月刊海洋, **22**, 39-44.
- Odate, T. and Imai, K., 2003: Seasonal variation in chlorophyll-specific growth and microzooplankton grazing of phytoplankton in Japanese coastal water. *J. Plankton Res.*, **25**, 1497-1505.
- Odate, T. and Maita, Y., 1988: Seasonal changes in the biomass of zooplankton and their food requirement in Funka Bay. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, **44**, 228-234.
- 奥村裕弥・磯田豊・工藤勲・宮園章, 2011: 簡略モデルを用いた噴火湾底泥 AVS 変化の検討. 沿岸海洋研究, **49**, 91-103.
- 大嶋和雄・横田節哉, 1985: 第 3 章 噴火湾 I 地質. 「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, 89-101.
- 大嶋和雄・井内美郎・村上文敏・松本英二・横田節哉・池田国昭・谷津良太郎・渡辺真治・木村亨・山屋政美, 1979: 噴火湾および周辺海域の堆積物. 昭和 53 年度国立試験研究機関公害特別研究報告書, 3-51.
- 大谷清隆, 1971: 噴火湾の海況変動の研究. II. 噴火湾に流入・滞留する水の特性. 北大水産彙報, **22**, 58-66.
- 大谷清隆, 1979: 噴火湾の水塊交替について. 沿岸海洋研究ノート, **17**, 50-59.
- 大谷清隆, 1981: 噴火湾の物理環境. 沿岸海洋研究ノート, **19**, 68-80.
- 大谷清隆・木戸和男, 1980: 噴火湾の海洋構造. 北大水産彙報, **31**, 84-114.
- Parsons, T. R., Takahashi, M. and Hargrave, B., 1984: Biological Oceanographic Processes 3rd Editinon, Pergamon press, Oxford, 1-330.

- パスコ (株), 1991: 平成 2 年度噴火湾シスト分布調査報告書, パスコ (株), 東京, 1-40.
- Penna, A., Garcés, E., Vila, M., Giacobbe, M. G., Fraga, S., Lugliè, A., Bravo, I., Bertozzini, E. and Vernesi, C., 2005: *Alexandrium catenella* (Dinophyceae), a toxic ribotype expanding in the NW Mediterranean Sea. *Mar. Biol.*, **148**, 13-23.
- Perez, C. C., Roy, S., Levasseur, M. and Anderson, D. M., 1998: Control of germination of *Alexandrium tamarens* (Dinophyceae) cysts from the lower St. Lawrence estuary (Canada). *J. Phycol.*, **34**, 242-249.
- Pfiester, L. A. and Anderson, D. M., 1987: Dinoflagellate reproduction. In “*The Biology of Dinoflagellates*” (ed. by F. J. R. Taylor), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 611-648.
- Pierce, R. W. and Turner, J. T., 1992: Ecology of planktonic ciliates in marine food webs. *Rev. Aquat. Sci.*, **6**, 139-181.
- Radiarta, I. N. and Saitoh, S.-I., 2008: Satellite-derived measurements of spatial and temporal chlorophyll-a variability in Funka Bay, southwestern Hokkaido, Japan. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **79**, 400-408.
- Rengefors, K., 1998: Seasonal succession of dinoflagellates coupled to the benthic cyst dynamics in Lake Erken. *Arch. Hydrobiol. Spec. Issues, Adv. Limnol.*, **51**, 123-141.
- Rengefors, K. and Anderson, D. M., 1998: Environmental and endogenous regulation of cyst germination in two freshwater dinoflagellates. *J. Phycol.*, **34**, 568-577.
- Ribeiro, S., Berge, T., Lundholm, N., Andersen, T. J., Abrantes, F. and Ellegaard, M., 2011: Phytoplankton growth after a century of dormancy illuminates past resilience to catastrophic darkness. *Nat. Commun.*, **2**, 311.
- Saitoh, S.-I., Mugo, R., Radiarta, I. N., Asaga, S., Takahashi, F., Hirawake, T., Ishikawa, Y., Awaji, T., In, T. and Shima, S., 2011: Some operational uses of satellite remote sensing and marine GIS for sustainable fisheries and aquaculture. *ICES Journal of Marine Science*, doi: 10.1093/icesjms/fsq190.
- Sako, Y., Kim C. H., Ninomiya, H., Adachi, M. and Ishida, Y., 1990: Ribozyme and cross analysis of mating populations in the *Alexandrium catenella* / *tamarens* species complex. In “*Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*” (eds. by E. Granéli, B. Sundström, L. Edler and D. M. Anderson), Elsevier, Amsterdam, 95-102.
- Sasaki, H., Miyamura, T., Saitoh, S.-I. and Ishizuka J., 2005: Seasonal variation of absorption by particles and colored dissolved organic matter (CDOM) in Funka

- Bay, southwestern Hokkaido, Japan. *Estuarine Coastal and Shelf Science*, **64**, 447-458.
- Scholin, C. A., Hallegraeff, G. M. and Anderson, D. M., 1995: Molecular evolution of the *Alexandrium tamarens* “species complex” (Dinophyceae): dispersal in the North American and West Pacific regions. *Phycologia*, **34**, 472-485.
- 嶋田宏, 2000: 噴火湾における植物プランクトン組成の季節変化. 沿岸海洋研究, **38**, 15-22.
- 嶋田宏・小松輝久, 1999: ニューラルネットワークによる麻痺性貝毒プランクトンの増殖予測. 平成 11 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集, 46.
- Shimada, H. and Miyazono, A., 2005: Horizontal distribution of toxic *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) resting cysts around Hokkaido, Japan. *Plankton Biol. Ecol.* **52**, 76-84.
- 嶋田宏・西田芳則, 1995: 貝毒プランクトンモニタリング調査. 平成 6 年度道立函館水試事業報告書, 199-212.
- 嶋田宏・西田芳則, 1996: 貝毒プランクトンモニタリング調査. 平成 7 年度道立函館水試事業報告書, 177-190.
- Shimada, H., Hayashi, T. and Mizushima, T., 1996: Spatial distribution of *Alexandrium tamarens* in Funka Bay, Southwestern Hokkaido, Japan. In “*Harmful Algal Blooms*” (eds. by Y. Yasumoto, Y. Oshima, Y. Fukuyo), UNESCO, Paris, 219-221.
- 嶋田宏・西田芳則・伊藤義三・水島敏博, 2000: 噴火湾八雲沿岸における養殖ホタテガイの成長, 生残と漁場環境要因の関係. 北水試研報, **58**, 49-62.
- Shinada, A., Shiga, N. and Ban, S., 1999: Structure and magnitude of diatom spring bloom in Funka Bay, southwestern Hokkaido, Japan, as influenced by the intrusion of Coastal Oyashio Water. *Plankton Biol. Ecol.*, **46**, 24-29.
- Steidinger, K. A., 1975: Basic factors influencing red tides. In “*Toxic Dinoflagellate Blooms Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellate Bloom*” (ed. by V. R. LoCicero), Massachusetts Sci. Tech. Found, Wakefield, Mass, 153-162.
- Steidinger, K. A. and Tangen, K., 1996: Dinoflagellates. In “*Identifying Marine Diatoms and Dinoflagellates*” (ed. by C. R. Tomas), Academic Press, London, 387-584.
- Stoecker, D. K. and Guillard, R. R. L., 1982: Effects of temperature and light on the feeding rate of *Favella* sp. (Ciliated Protozoa, suborder Tintinnina). *Ann. Inst. Océanogr. Paris*, **58**, 309-318.
- Stoecker, D. K., Guillard, R. R. L. and Kavee, R. M., 1981: Selective predation by

- Favella ehrenbergii* (Tintinnina) on and among dinoflagellates. *Biol. Bull.*, **160**, 136-145.
- Stolte, W., Panosso, R., Gisselson, L. and Granéli, E., 2002: Utilization efficiency of nitrogen associated with riverine dissolved organic carbon (> 1 kDa) by two toxin-producing phytoplankton species. *Aquat. Microb. Ecol.*, **29**, 97-105.
- Su, H. M., Chiang Y. M. and Laio I. C., 1993: Role of temperature, salinity and ammonia on the occurrence of the Taiwanese strain of *Alexandrium tamarense*. In “*Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea*” (eds. by T. J. Smayda and Y. Shimizu), Elsevier, Amsterdam, 837-842.
- 水産庁, 1980: 昭和 54 年度漁場改良復旧基礎調査報告書, 1-154.
- 水産庁北海道区水産研究所・北海道立函館水産試験場・北海道室蘭地区水産技術普及指導所, 2000: 有珠山噴火による海洋・生物への影響緊急調査報告書, 1-111.
- 水産研究総合センター, 2012: 特集 震災復興への取り組み 沿岸漁場・養殖場環境への影響 貝毒プランクトン調査. FRANEWS, **30**, 9.
- Sussman, A. S., 1965: Physiology of dormancy and germination in the propagules of cryptogamic plants. In “*Encyclopedia of Plant Physiology*” (ed. by A.L. Lang), Springer-Verlag, New York, **15**, Pt. 2, 933-1025.
- 竹内照文・小久保友義・福代康夫, 1990: 田辺湾における *Alexandrium catenella* (Dinophyceae)の栄養細胞とシストの分布. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **37**, 157-165.
- Takeuchi, T., Kokubo, T., Fukuyo, Y. and Matsuoka, K., 1995: Quantitative relationship among vegetative cells, planozygotes, and hypnozygotes of *Alexandrium catenella* (Dinophyceae) in its blooming season at Tanabe Bay, Central Japan. Abstract, 7th Int'l Conf. on Toxic Phytoplankton, Sendai, Japan.
- Tanaka, I., 1984: Distribution of chlorophyll a at the frontal region formed in the waters adjacent to Funka Bay, Hokkaido. *Bull. Japan. Soc. Fish. Oceanogr.*, **46**, 9-17.
- Thimijan, R. W. and Heins, R. D., 1983: Photometric, radiometric, and quantum light units of measure: a review of procedures for interconversion. *Hort Science*, **18**, 818-822.
- 辻野睦, 2006: マクロベントス（イソゴカイとシズクガイ）がアレキサンドリウムシストの鉛直分布と発芽に及ぼす影響. 水研センター研報, **17**, 17-22.
- Turner, J. T. and Anderson, D. M., 1983: Zooplankton grazing during dinoflagellate blooms in a Cape Cod embayment, with observations of predation upon tintinnids

- by copepods. *Mar. Ecol.*, **4**, 359-374.
- Uchida, T., Kawamata, K. and Nishihama, Y., 1980: Vertical distribution of paralytic toxin-producing species, *Protogonyaulax* sp. in Funka Bay, Hokkaido. 藻類, **28**, 133-139.
- Wall, D., 1971: Biological problems concerning fossilizable dinoflagellates. *Geosci. Man*, **3**, 1-15.
- Wall, D., 1975: Taxonomy of cysts of red tide dinoflagellates. In “*Toxic Dinoflagellate Blooms Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellate Bloom*” (ed. by V. R. LoCicero), Massachusetts Sci. Tech. Found, Wakefield, Mass, 249-255.
- Wall, D. and Dale, B., 1968: Modern dinoflagellates cysts and evolution of the Peridiniales. *Micropaleontology*, **14**, 265-304.
- Wall, D. and Dale, B., 1969: The ‘Hystriochosphaerid’ resting spore of *Pyrodinium bahamense* Plate, 1906. *J. Phycol.*, **5**, 140-149.
- Watras, C. J., Chisholm, S. W. and Anderson, D. M., 1982: Regulation of growth in an estuarine clone of *Gonyaulax tamarens* Lebour: Salinity-dependent temperature responses. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **62**, 25-37.
- Watras, C. J., Garcon, V. C., Olson, R. J., Chisholm, S. W. and Anderson, D. M., 1985: The effect of zooplankton grazing on estuarine blooms of the toxic dinoflagellate *Gonyaulax tamarens*. *J. Plankton Res.*, **7**, 891-908.
- White, A. W., 1987: Relationship of environmental factors to toxic dinoflagellate blooms in the Bay of Fundy. *Rapport Processes verbales Reunion Conseil international pour l'Exploration de la Mer.*, **187**, 38-46.
- 山口峰生, 1994: *Gymnodinium nagasakiense* の赤潮発生機構と発生予知に関する生理生態学的研究. 南西水研研報, **27**, 251-394.
- 山口峰生・板倉茂・今井一郎, 1995: 広島湾海底泥における有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarens* および *Alexandrium catenella* シストの現存量と水平・鉛直分布. 日本水産学会誌, **61**, 700-706.
- Yamaguchi, M., Itakura, S., Imai, I. and Ishida, Y., 1995: A rapid and precise technique for enumeration of resting cysts of *Alexandrium* spp. (Dinophyceae) in natural sediments. *Phycologia*, **34**, 207-214.
- 山本民次・樽谷賢治, 1997: 広島湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarens* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類, **45**, 95-101.
- 山本民次・吉津祐子・樽谷賢治, 1995: 三河湾産有毒渦鞭毛藻 *Alexandrium tamarens* の増殖に及ぼす水温, 塩分及び光強度の影響. 藻類, **43**, 91-98.

柳井清治・雁澤好博・古森康晴, 1992: 最終氷期末期に噴出した濁川テフラの層序と分布. 地質学雑誌, **98**, 125-136.

Yasunaka, S., and Hanawa, K., 2002: Regime shifts found in the Northern Hemisphere SST field. *J. Meteorol. Scos. Jpn*, **80**, 119-135.

Yentsch, C. L., Cole E. J. and Salvaggio M. G., 1975: Some of the growth characteristics of *Gonyaulax tamarens* isolated from the Gulf of Maine. In “*Toxic Dinoflagellate Blooms Proceedings of the First International Conference on Toxic Dinoflagellate Bloom*” (ed. by V. R. LoCiceero), Massachusetts Sci. Tech. Found, Wakefield, Mass, 163-180.

芳村毅・工藤勲, 2003: 噴火湾における河川からの栄養塩負荷量およびそれらが湾内の基礎生産に与える影響. 海の研究, **12**, 185-193.