

## 大型の珪藻類 *Coscinodiscus wailesii* の播磨灘から採取された海底泥土中における休眠細胞の形成と生存

長井 敏\*<sup>1</sup>

(1999年1月6日受付)

### Resting Cell Formation of the Giant Diatom *Coscinodiscus wailesii* GRAN and Their Survival in Sediments Collected in Harima-nada, Eastern Seto Inland Sea, Japan

Satoshi NAGAI\*<sup>1</sup>

Resting cells of the giant diatom *Coscinodiscus wailesii* were artificially produced by mixing vegetative cells of the diatom with several marine sediments collected from Harima-nada and by incubating in darkness under laboratory conditions. Effects of moisture content, median diameter and sulfide of the sediments were examined on resting cell formation and survival of the diatom. Results clearly show that a high concentration of sulfide 0.5 mg g<sup>-1</sup> dry sediment or more have some adverse effects on the survival of vegetative and resting cells. There is a possibility that relatively larger median diameter of sediments and low moisture content in sediments are factors adversely influencing the survival of these cells. Accordingly, these findings suggest that differences of chemical and physical factors such as dissolved oxygen, sulfide, moisture content, and size distribution of sediment particles influence significantly the survival of resting cells of *C. wailesii* in natural sediments of Harima-nada.

キーワード: *Coscinodiscus wailesii*, 海底泥, 休眠細胞, 珪藻, 復活

温帯の沿岸, 内湾, 湧昇域等に生息する植物プランクトンの多くの種は, 季節的に著しい消長を示す。<sup>1)</sup> このような植物プランクトンの中には, 有害赤潮の代表ともいえる *Chattonella* (*C. antiqua*, *C. marina*) や, 多くの種類の珪藻類が含まれる。これらの生物は生活史の中でシストや休眠状態にある細胞の時期を持ち, その間海底で過ごすことが知られてきた。<sup>2)</sup> 浮遊珪藻類は, その生活史の一時期に, 休眠孢子 "resting spore", あるいは休眠細胞 "resting cell" と呼ばれる細胞を形成することが知られている。<sup>3-11)</sup> 休眠孢子と呼ばれるものは, 厚い珪酸質の被殻を持ち, 形態的に栄養細胞とは異なった特徴を有する細胞である。<sup>8, 12-14)</sup> *Chaetoceros* 属が形成する休眠孢子は, 現場海水中にもしばしば観察され, その形態に関する知見は比較的多く, 種の分類基準としても重要とされている。<sup>15-18)</sup> 一方, 休眠細胞は色素の暗化や凝集が起こるが, 形態的には栄養細胞と酷似した細胞である。<sup>8, 9, 12, 19)</sup>

休眠期細胞の形成条件や発芽 (あるいは復活) 条件は, 水域における植物プランクトン種の季節的出現性と深く関わりを持つため, 植物プランクトン種の交代あるいは遷移現象を考える上で必要不可欠な研究と考えられる。珪藻類の休眠細胞および休眠孢子の形成条件については, Stosch and Drebes<sup>20)</sup>, Drebes<sup>21)</sup>, Hargraves and French<sup>22)</sup>, Durbin<sup>23)</sup>, Stosch and Fecher<sup>24)</sup>, French and Hargraves<sup>25)</sup>, Davis *et al.*<sup>26)</sup>, Hollibaugh *et al.*<sup>27)</sup>, 桑田<sup>28)</sup>, および板倉ほか<sup>14)</sup> などの研究がある。これまで報告されている多くの珪藻類 (特に *Chaetoceros* 属) について, 休眠孢子的形成条件が調べられているが, 多くの場合, 栄養塩 (特に窒素) 欠乏が休眠期細胞の形成を引き起こす主要因であることが, 培養条件下および現場調査の結果から報告されている。<sup>12, 28, 29)</sup>

長井ほか<sup>30)</sup> は, 播磨灘海底泥中から大型の珪藻類 *Coscinodiscus wailesii* の休眠細胞を探索し, 初めてこれを見出した。Nagai *et al.*<sup>31)</sup> は, 播磨灘北部の定点で1992

\*1 兵庫県但馬水産事務所試験研究室(Hyogo Prefectural Tajima Fisheries Experimental

- 2 -

～1995年にかけて3年間、水中の栄養細胞と海底泥中の休眠細胞密度および環境要因について調査を実施し、播磨灘においては海底泥中で越冬した本種の休眠細胞が秋期、水中の栄養細胞のブルームのseed populationとしての役割を果たしている可能性の高いことを指摘した。Nagai and Imai<sup>29)</sup> は、採取した海底泥に、培養した本種の栄養細胞を懸濁した後、暗黒条件下で保存すると休眠細胞が形成されることを報告した。また、海底泥中の、

*C. walesii*休眠細胞の形成を誘因する因子を探索した結果、嫌気条件でかつ暗黒条件であることが主たる誘因因子となり、必須ではないが、泥の粒子がわずかに促進因子となりうるという。本研究では、播磨灘北部の7地点から採取した海底泥を用いて休眠細胞の形成を人為的条件下で試み、その形成頻度や生残等と海底泥の性質との関連について調べた。

### 材料および方法

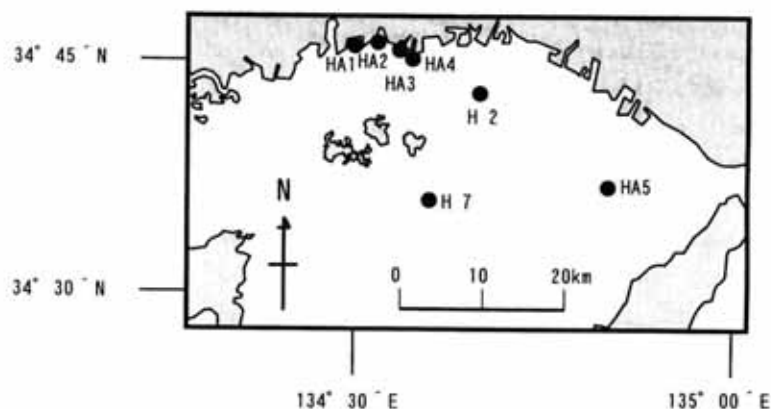


Fig. 1. Location of the sampling stations in Harima-nada, eastern Seto Inland Sea, Japan.

1994年7月に、Fig. 1に示した播磨灘北部の7調査地点の海底泥を、Sta. H2, H7ではKK式柱状採泥器<sup>30)</sup>により、Sta. HA1～HA5ではドレッジにより採取し、実験室に持ち帰り10℃の冷暗所に保存した。温度20℃、光強度 $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期8hL/16hDの条件下、MP1培養液<sup>31)</sup>中で対数増殖期中～後期まで培養した*C. walesii* RG1株(無菌クローン培養株、以下の休眠細胞形成の全ての実験に用いた)約1000細胞(400 $\mu\text{l}$ のMP1液を含む)を各地点で採集した海底泥約15gにそれぞれ懸濁し、これらを10ml容ねじ口ガラス瓶(日電理化ガラス)に詰め、温度20℃の暗黒条件下に20日間保存した。20日後、各ビンの100～500 $\mu\text{m}$ の画分を篩洗浄法<sup>32)</sup>により取り出し、滅菌濾過海水にて10～20mlにメスアップした。このうち、1～2mlをよく攪拌しながらマイクロピペット

により取り出し、光学顕微鏡下、全細胞数を生細胞数と死細胞数の和、生存細胞数を生存している栄養細胞と休眠細胞の和としてそれぞれ求め、*C. walesii*全細胞生残率(生存細胞数/全細胞数 $\times 100$ (%))；以下、S/Tと略称する)、休眠細胞率(休眠細胞数/生存細胞数 $\times 100$ (%))；以下、R/Sと略称する)、休眠細胞形成率(休眠細胞数/全細胞数 $\times 100$ (%))；以下、R/Tと略称する)として示した。なお、実験開始時のS/Tは、 $96.6 \pm 2.3$ (平均 $\pm$ 標準偏差)%であり、全ての細胞が栄養細胞であった。同時に、実験に用いた泥の水分含量、粒度組成、中央粒径および硫化物量を求めた。水分含量、粒度組成、中央粒径については、水質汚濁調査指針<sup>33)</sup>に準じて分析した。硫化物量については、ヘドロテック-S(ガステック)により測定した。

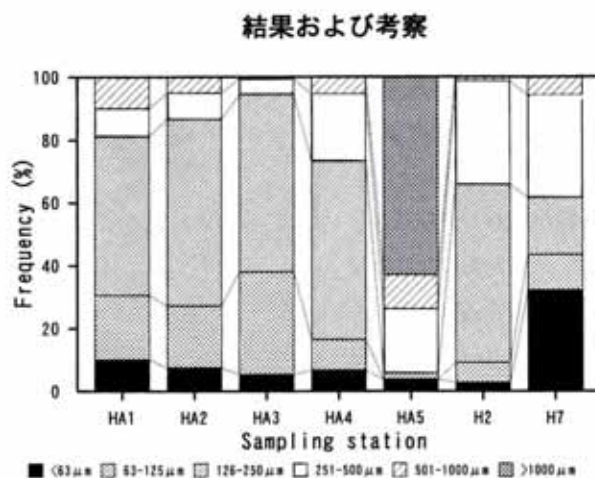


Fig. 2. The size distribution of the sediments collected at the 7 stations in Harima-nada (Fig. 1).

Fig. 2に、播磨灘の7地点で採取された海底泥の粒度組成を示した。Sta. HA1～HA4およびSta. H2の海底泥は126～250 $\mu$ mの画分が最も多く全体の50～60%を占めており、これらの地点の粒度組成はよく類似した。Sta. HA5では1000 $\mu$ m以上の画分が60%以上を占めており、砂礫がほとんどであった。Sta. H7では251～500 $\mu$ mと63 $\mu$ m以下の画分がそれぞれ約30%を占めており、他の地点より、細かい粒子の占める割合が若干多かった。

**Table 1.** Relationships between the moisture content, median diameter and sulfide in sediments, and the formation and survival of resting cells of *Coscinodiscus walesii* in culture. Vegetative cells were inoculated into each sediment and incubated at a temperature of 20°C for 20 days in the dark.

	Sampling station						
	HA1	HA2	HA3	HA4	HA5	H2	H7
moisture content (%)	30.1	30.7	29.5	27.7	12.4	27.6	51.7
median diameter ( $\mu$ m)	175	175	154	200	>1000	218	176
sulfide (mg g <sup>-1</sup> dry sediment)	0.89	1.03	0.51	0.09	<0.02	0.07	<0.02
S/T (%) <sup>*1</sup>	0.0	3.0	7.3	43.8	4.3	43.9	52.1
R/S (%) <sup>*2</sup>	0.0	71.4	86.7	94.8	74.1	96.2	92.3
R/T (%) <sup>*3</sup>	0.0	2.2	6.4	41.5	3.2	42.2	48.1

<sup>\*1</sup> Percentage of the number of survived cells to that of the total cells;

<sup>\*2</sup> Percentage of the number of resting cells formed to that of the survived cells;

<sup>\*3</sup> Percentage of the number of resting cells formed to that of the total cells

Table 1に、7地点で採集した各泥の水分含量、中央粒径、硫化物量と、C. walesii全細胞生存率、休眠細胞率はSta. HA5で12.4%と低く、Sta. H7で51.7%と高かった。

- 4 -

中央粒径はSta. HA5で $>1000\mu\text{m}$ と著しく大きかった他は $150\sim 220\mu\text{m}$ の範囲にあり、大きな差異はなかった。硫化物量は $<0.02\sim 1.03\text{mg g}^{-1}$  dry sedimentの範囲にあり、Sta. HA1, HA2で著しく高く、HA3でも比較的高かった。全細胞生残率S/TはSta. HA1~HA3で著しく低く、特にSta. HA1では実験終了時には全細胞が死滅していた。S/Tの低さは硫化物量と対応しており、海底泥中における*C. wailesii*の栄養細胞および休眠細胞の生存にとって、高濃度の硫化物は著しく悪影響を及ぼすことが判った。一方、Sta. HA5においてもS/Tは4.3%と低かった。本地点における硫化物量は $0.02\text{mg g}^{-1}$  dry sedimentと少なかったが、水分含量は12.4%と他の地点より著しく少なかった。また、中央粒径が $1000\mu\text{m}$ より大きかった。同じ海底泥を用いて、異なる水分含量条件下で*C. wailesii*の休眠細胞の形成を試み、その生残について検討した結果、水分含量が少ないほど生残率(S/T)が低くなる結果を得た(長井 未発表)。従って、水分含量が少ないか、あるいは粒子径が大きすぎるとS/Tが低下することが示唆された。

Fig. 3にSta. H2で採集した海底泥中で形成された*C. wailesii*の休眠細胞を示した。形成された休眠細胞の形態的特徴は、細胞質が被殻から分離し、細胞の中央付近で凝集することであり、栄養細胞とは容易に区別することができる。<sup>11)</sup> Fig. 4 (A, B)には、Sta. HA3の海底泥中により形成された休眠細胞を示した。多くの死滅した細胞の中 (A), 休眠細胞が生存していた (B)。Sta. HA3の海底泥における休眠細胞率R/Sは86.7%であり、生存している細胞のほとんどが休眠細胞であった。しかし、多くの細胞は硫化物の影響で死滅し、休眠細胞形成率R/Tは6.4%であった。一方、Sta. HA4, H2およびH7の海底泥でもR/S, R/Tは共に高く、R/Sは90%以上、R/Tも40%以上であった。Sta. H7の海底泥において、他の地点より水分含量が多く、かつ $63\mu\text{m}$ 未満の粒子の存在割合が高かったが、このことがR/Tの最も高かった主な原因かどうかは明らかではない。ただ、Nagai and Imai<sup>11)</sup>により、本種の休眠細胞形成における泥粒子の存在効果が調べられており、S/Tは海底泥を用いた実験に比べて著しく低かったが、R/Sは $<63\mu\text{m}$ および $64\sim 125\mu\text{m}$ の画分でそれぞれ72.4%, 77.8%であり、 $126\sim 250\mu\text{m}$ や $251\sim 500\mu\text{m}$ のそれより高かったことから、粒子サイズは

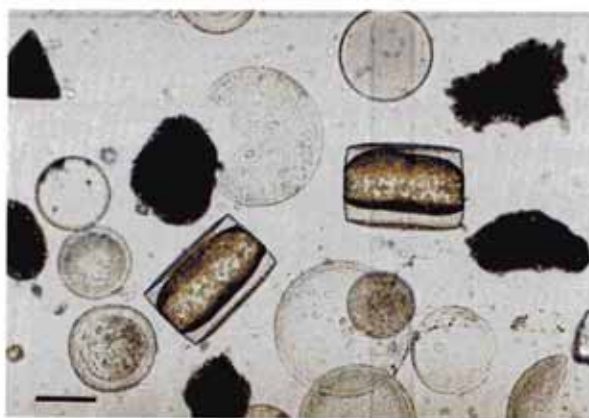


Fig. 3. A light microphotograph of *Coscinodiscus wailesii* resting cells formed in the sediment collected at a Sta. H2. (Scale bar,  $100\mu\text{m}$ )



Fig. 4. Light microphotographs of dead cells and a survived resting cell of *Coscinodiscus wailesii* in sediment collected at a Sta. HA3 containing sulfide at a high concentration ( $0.51\text{mg g}^{-1}$  dry sediment). A; numerous dead cells, and a survived resting cell indicated by an arrow, B; higher focus of the resting cell indicated by an arrow. (Scale bars, A,  $250\mu\text{m}$ ; B,  $100\mu\text{m}$ )

本種の休眠細胞形成を促進する因子の一つであり、原因は不明であるが粒子の大きさによってその効果の異なることが指摘されている。従って、休眠細胞の形成頻度や生残が、その場所の海底泥の粒度組成によって影響を受ける可能性は高い。海底泥に栄養細胞を懸濁した後、暗黒条件下で保存すると、Figs. 3, 4に示したように栄養細胞と形態が異なる休眠細胞が形成される。休眠胞子の形成に際しては、栄養細胞の二分分裂とは異なった細胞分裂を伴うため、外部形態的に栄養細胞と著しく異なった（珪酸質の蓄積、装飾物等）を持つ細胞となる場合が多い。<sup>3, 12</sup> しかし、Figs. 3, 4に示した細胞は、特別な細胞分裂をして形成された痕跡がなく、その形態も休眠胞子と栄養細胞（例えば、*Chaetoceros*や*Stephanopyxis*属）ほど差異は大きくなかった。一般に、休眠細胞はその形成の際には特別な細胞分裂は伴わないと考えられ、その外部形態から栄養細胞と区別するのは困難である。<sup>6, 38, 39</sup>

しかし、休眠細胞は、細胞内に色調が暗化した細胞質の凝集体を持つこと、脂肪粒の蓄積が目立つ点などにおいて、通常の栄養細胞とは異なった特徴を持っていることで区別が可能である。<sup>6, 9, 13, 15, 38, 40</sup> 緑色の果粒の形成が、天然の泥から見出された*C. walesii*の休眠細胞においても観察されており、これらが脂肪粒である可能性が示唆されている。<sup>20</sup> 以上のように、典型的な珪藻休眠細胞の一般的形態的特徴と、*C. walesii*の休眠細胞の特徴は良く一致している。

一般に、珪藻類の休眠胞子形成を促す最も重要な要因として、窒素欠乏が知られている。<sup>13, 14, 20</sup> しかしながら、板倉<sup>41</sup>は、*S. costatum*の休眠細胞形成における栄養塩の効果について、栄養塩（窒素あるいは磷）の欠乏が引き金になるのではなく、逆にいずれかの栄養塩濃度があまり低くなると休眠細胞が形成されなくなってしまうと述べている。光が珪藻類の休眠期細胞形成に与える影響については、休眠胞子の場合、暗条件によって胞子形成が引き起こされることはない。<sup>20</sup> 一方、休眠細胞の形成誘導に関しては、淡水産珪藻の*Amphora coffaeformis*<sup>39</sup>

や、*Melosira granulata*でも、わずかな温度の低下と暗黒条件の組み合わせが最も効果的な方法である。<sup>42</sup> *S. costatum*では、栄養細胞の状態ではほとんど増殖できないような光強度（約 $10 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 以下あるいは暗黒）に置かれた場合に休眠細胞を形成し、栄養細胞が活発に

増殖できるような光強度下（約 $80 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ）では休眠細胞を形成しない。<sup>43</sup> 従って、休眠胞子と休眠細胞の形成条件では、光の影響が異なると考えられている。<sup>20</sup>

嫌気条件は、休眠胞子の生存能力を減退させる環境要因であると考えられているにもかかわらず<sup>28, 29</sup>、休眠細胞については、嫌気条件下にある湖の底泥から、生きた細胞が得られている。<sup>15, 38</sup> このように、淡水産の珪藻類の休眠細胞の生存に及ぼす嫌気条件の影響について、その重要性が報告されてはいるが、休眠の引き金になるのか、それとも暗所での生存期間を伸長する効果があるのかについては不明のままである。なお、海産ラフィド藻の1種、*Heterosigma akashiwo*のシスト形成についても、*C. walesii*の休眠細胞と同様、*H. akashiwo*が豊富にいる海水に少量の海底泥を加え、暗黒条件下に移すことでその誘導が可能である。<sup>42</sup> しかしながら、*H. akashiwo*のシスト形成を促進する泥中の因子について明らかにされていない。

採集した天然の海底泥中の、*C. walesii*休眠細胞の形成を誘因する因子を探索した結果、嫌気条件でかつ暗黒条件であることが主たる誘因因子となり、必須ではないが、泥の粒子がわずかに促進因子となりうることを確認された。<sup>20</sup> 有害赤潮藻の*Chattonella*属の培養条件下におけるシスト形成においてもガラスビーズ（粒子）の効果が報告されているが<sup>3, 43</sup>、この場合、*Chattonella*属はシストの付着基質としてガラスビーズを利用するだけで、粒子の存在がシスト形成の引き金になるわけではないようである。*C. walesii*の休眠細胞形成における粒子の効果については、以下のように推測できる。すなわち、海底泥に懸濁され、暗黒条件下に置かれた栄養細胞は光合成ができず、呼吸のみをしなければならない。個々の細胞は、周囲が粒子に囲まれ閉塞的環境下にあり、呼吸するにつれ、細胞周囲の微環境は嫌氣的雰囲気へと徐々に変化していく。嫌気状態の進行に伴い、休眠細胞が活発に形成されることになる。本研究の結果から、嫌気状態の進行の程度の差異（溶存酸素量）に加えて、水分含量、粒子サイズや硫化物量の差異が、休眠細胞の形成や生残に大きな影響を与える可能性が強く示唆される。矢持<sup>44</sup>も、大阪湾東部沿岸海域と湾奥海域から採取した海底泥における、*H. akashiwo*および*S. costatum*の休眠期細胞の耐久能力について検討した結果、底質の有機汚濁の進行して

いる湾奥海域の底泥では、両種とも生存期間が短くなった結果から、底質の性状またはそれと関連した要因が休眠期細胞の生残に大きく関与することを述べている。今後の課題として、休眠細胞の海底泥中での役割をさらに明らかにするため、休眠細胞を人工的に形成し、復活や暗所での生存に及ぼす環境諸要因の影響を詳しく調べる必要性が挙げられる。

### 謝辞

本研究に対し、ご懇篤なるご指導とご鞭撻を賜りました京都大学農学部助教授 今井一郎先生に心からお礼申し上げます。本研究の遂行に、ご協力と暖かいご声援を戴いた兵庫県立水産試験場資源部 堀 豊主任研究員に深く感謝の意を表します。また、試料の採集にあたって、海上作業にご協力戴いた当水産試験場調査船の中筋晴喜船長、ならびに船員の方に深謝します。

### 引用文献

- 1) T. J. Smayda : Phytoplankton species succession. In Morris, I. (ed.), *The physiological ecology of phytoplankton*. Blackwell, Scientific Publ., Oxford, 493-570 (1980).
- 2) I. Imai and K. Itoh : Cysts of *Chattonella antiqua* and *C. marina* (Raphidophyceae) in sediments of the Inland Sea of Japan. *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **35**, 35-44 (1988).
- 3) 今井一郎 : 有害赤潮ラフィド藻 *Chattonella* のシストに関する 生理生態学的研究. 南西水研報, **23**, 63-166 (1990).
- 4) 今井一郎・板倉 茂・伊藤克彦 : 播磨灘および北部広島湾の海底泥中における珪藻類の休眠細胞の分布. 沿岸海洋研究ノート, **28**, 75-84 (1990).
- 5) 板倉 茂 : 海底泥中に存在する珪藻類の休眠細胞. 有害赤潮の生態学的制御による被害防除技術の開発に関する研究. 平成元年度報告書, 7-20 (1990).
- 6) 板倉 茂・今井一郎・伊藤克彦 : 海底泥中から見出された珪藻 *Skeletonema costatum* 休眠細胞の形態と復活過程. 日本プランクトン学会報, **38**, 135-145 (1992).
- 7) S. Itakura, I. Imai and K. Itoh : "Seed bank" of coastal planktonic diatoms in bottom sediments of Hiroshima Bay, Seto Inland Sea, Japan. *Mar. Biol.*, **128**, 497-508 (1997).
- 8) 小久保清治 : 浮遊珪藻類. 日本学術振興会, 東京, 316pp (1955).
- 9) D. L. Garrison : Planktonic diatoms. In Steidinger, K. A. and Walker L. M. (eds.), *Marine Plankton Life cycle Strategies*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1-17 (1984).
- 10) J. Ishizaka, M. Kaichi and M. Takahashi : Resting spore formation of *Leptocylindrus danicus* (Bacillariophyceae) during short time-scale upwelling and its significance as predicted by a simple model. *Ecol. Res.*, **2**, 229-242 (1987).
- 11) G. C. Pitcher : Phytoplankton seed population of the cape Peninsula upwelling plume, with particular reference to resting spores of *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) and their role in seeding upwelling waters. *Estuar. coast. Shelf Sci.*, **31**, 283-301 (1990).
- 12) E. E. Syvertsen : Resting spore formation in clonal cultures of *Thalassiosira antarctica* Comber, *T. nordenskioldii* Cleve and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Nova Hedwigia Beih.*, **64**, 41-63 (1979).
- 13) P. E. Hargraves and F. W. French : Diatom resting spore : significance and strategies. In Fryxell, G. A. (ed.), *Survival strategies of the algae*. Cambridge Univ. Press, Cambridge, 49-68 (1983).
- 14) 板倉 茂・山口峰生・今井一郎 : 培養条件下における浮遊性珪藻 *Chaetoceros didymus* var. *protuberans* の休眠胞子形成と発芽. 日水誌, **59**, 807-813 (1993).
- 15) 小久保清治 : 浮遊珪藻類. 恒星社厚生閣, 東京, 330pp (1960).
- 16) J. E. B. Rines and P. E. Hargraves : Considerations of the taxonomy and biogeography of *Chaetoceros ceratosporus* Ostf. and *Chaetoceros rigidus* Ostf. In Ricard, M. (ed.), *Proceedings of the 8th*

- international diatom symposium*. Koenigstein, O. Koeltz, 97-112 (1986).
- 17) D. A. Stockwell and P. E. Hargraves : Morphological variability within resting spores of the marine diatom genus *Chaetoceros* Ehernberg. In Ricard, M. (ed.), *Proceedings of the 8th international diatom symposium*. Koenigstein, O. Koeltz, 81-95 (1986).
- 18) J. E. B. Rines and P. E. Hargraves : The *Chaetoceros* Ehrenberg (Bacillariophyceae) flora of Narragansett Bay, Rhode Island, U. S. A., J. Cramer, Berlin, 196p (1988).
- 19) L. Sicko-Goad, E. F. Stoermer and G. Fahnenstiel : Rejuvenation of *Melosira granulata* (Bacillariophyceae) resting cells from the anoxic sediments of Douglas Lake, Michigan. I. Light microscopy and <sup>14</sup>C uptake. *J. Phycol.*, **22**, 22-28 (1986).
- 20) H. A. von Stosch and G. Drebes : Entwicklungsgeschichtliche untersuchungen an zentrischen diatomeen. IV. Die planktondiatomee *Stephanopyxis turris* - ihre behandlung und entwicklungsgeschichte. *Helgolander wiss. Meeresunters.*, **11**, 209-257 (1964).
- 21) G. Drebes : On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana*. *Helgolander wiss. Meeresunters.*, **13**, 101-114 (1966).
- 22) P. E. Hargraves and F. W. French : Observations on the survival of diatom resting spores. *Nova Hedwigia Beih.*, **53**, 229-238 (1975).
- 23) E. G. Durbin : Aspects of the biology of resting spores of *Thalassiosira nordenskioldii* and *Detonula confervacea*. *Mar. Biol.*, **45**, 31-37 (1978).
- 24) H. A. von Stosch and K. Fecher : "Internal thecae" of *Eunotia soleirolii* (Bacillariophyceae): development, structure and function as resting spore. *J. Phycol.*, **25**, 233-243 (1979).
- 25) F. W. French and P. E. Hargraves : Physiological characteristics of plankton diatom resting spores. *Mar. Biol. Lett.*, **1**, 185-195 (1980).
- 26) C. O. Davis, J. T. Hollibaugh, D. L. R. Seibert, W. H. Thomas, and P. J. Harrison : Formation of resting spores by *Leptocylindrus danicus* (Bacillariophyceae) in a controlled experimental ecosystem. *J. Phycol.*, **16**, 296-302 (1980).
- 27) J. T. Hollibaugh, D. L. R. Seibert and W. H. Thomas : Observations on the survival and germination of resting spores of three *Chaetoceros* (Bacillariophyceae) species. *J. Phycol.*, **17**, 1-9 (1981).
- 28) 桑田 晃 : 局地性湧昇域における珪藻の休眠孢子形成. 月刊海洋, **21**, 588-592 (1989).
- 29) D. L. Garrison : Monterey Bay Phytoplankton. II. Resting spore cycles in coastal diatom populations. *J. Plankton Res.*, **3**, 137-156 (1981).
- 30) 板倉 茂・今井一郎 : 1991年 夏季播磨灘の海況と表層水中における浮遊性珪藻類*Chaetoceros*休眠孢子の分布. 水産海洋研究, **58**, 29-42 (1994).
- 31) 長井 敏・堀 豊・眞鍋武彦・今井一郎 : 播磨灘海底泥中から見いだされた大型珪藻*Coscinodiscus walesii* Gran 休眠細胞の形態と復活過程. 日水誌, **61**, 179-185 (1995).
- 32) S. Nagai, Y. Hori, K. Miyahara, T. Manabe, and I. Imai : Population dynamics of *Coscinodiscus walesii* Gran (Bacillariophyceae) in Harima-nada, Seto Inland Sea, Japan. In Yasumoto, T., Oshima, Y and Fukuyo, Y. (eds.), *Harmful and Toxic Algal Blooms*. International Oceanographic Commission of UNESCO, 239-242 (1996).
- 33) S. Nagai, and I. Imai. Factors influencing resting cell formation of *Coscinodiscus walesii* Gran (Bacillariophyceae) in culture. *Plankton Biol. Ecol.*, **46**, 94-103(1999)
- 34) 木俣正夫・河合 章・石田祐三郎 : 海底泥土の採取法. 日水誌, **26**, 1227-1230 (1960).
- 35) 長井 敏・眞鍋武彦 : 培養条件下における大型の珪藻類の*Coscinodiscus walesii*の増大孢子形成. 日本プランクトン学会報, **40**, 151-167 (1994).
- 36) I. Imai, K. Itoh and M. Anraku : Extinction dilution method for enumeration of dormant cells of red tide organisms in marine sediments. *Bull. Plankton Soc. Japan*, **31**, 123-124 (1984).
- 37) 荒川 清 : 水質汚濁調査指針. 日本水産資源保護協会編, 恒星社恒星閣. 東京, 1980, pp.237-241.

- 38) J. W. Lund : The seasonal cycle of the Plankton diatom, *Melosira italica* (Ehr.) Kutz. subsp. *subarctica* O. Mull. *J. Ecol.*, 42, 151-179 (1954).
- 39) O. R. Anderson : The ultrastructure and cytochemistry of resting cell formation in *Amphora coffaeformis* (Bacillariophyceae). *J. Phycol.*, 11, 272-281 (1975).
- 40) L. Sicko-Goad, E. F. Stoermer and J. P. Kociolek : Diatom resting cell rejuvenation and formation: time courses, species records and distribution. *J. Plankton Res.*, 11, 375-389 (1989).
- 41) 板倉 茂 : 浮遊性珪藻 *Skeletonema costatum* の休眠細胞形成条件. 有害赤潮の生態学的制御による被害防除技術の開発に関する研究. 平成3年度報告書, 7-15 (1992).
- 42) S. Itakura, K. Nagasaki, M. Yamaguchi and I. Imai : Cyst formation in the red tide flagellate *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae). *J. Plankton Res.*, 18, 1975-1979 (1996).
- 43) I. Imai : Cyst formation of the noxious red tide flagellate *Chattonella marina* (Raphidophyceae) in culture. *Mar. Biol.*, 103, 235-239 (1989).
- 44) 矢持 進 : 大阪湾における *Heterosigma akashiwo* の赤潮発生機構に関する研究. 大阪水試研報, 8, 1-110 (1989).