

博士学位論文

海洋におけるヤブレッツボカビ類の季節変動に関する
生態学的研究

Ecological Study on Seasonal Dynamics of Thraustochytrids
in Marine Environment (Labyrinthulomycetes, Stramenopiles)

上田 真由美

2015年1月

甲南大学大学院 自然科学研究科 生命・機能科学専攻

要旨

ヤブレッツボカビ類は無色の単細胞生物であり、ストラメノパイル生物群のラビリンチュラ菌綱に属している。海洋の有機物分解は細菌によって行われ、そのエネルギーは原生生物、動物プランクトンを経て生食連鎖に組み込まれる微生物ループが一般的に知られているが、真核生物の分解者はあまり大きく取り上げられてこなかった。ところが近年、真核従属栄養生物であるヤブレッツボカビ類がその生息域の広さと現存量の大きさから、海洋生態系の中で重要な役割を果たしている可能性が示唆されてきている。しかしながら、ヤブレッツボカビ類が年間を通してどのような細胞密度の変動をしているのか、どの属や種が生態的に重要なのかといった情報はほとんどなかった。

そこで本研究は、河口域と沿岸域の4定点で、ヤブレッツボカビ類の細胞密度と構成系統群について、約6年間、1ヶ月ごとに継続的な調査を行った。ヤブレッツボカビ類の細胞密度を測定した結果、春から晩夏にかけて顕著に数回の急激な増減が、河口域ではほぼ隔年に、それ以外では毎年観測された。この現象を「ヤブレッツボカビ・スパイク」と名付けた。ヤブレッツボカビ類の細胞密度は、植物プランクトンのクロロフィル *a* 濃度とは相関が見られなかったが、スパイク発生時には、降雨による塩分低下と水温上昇との関係が示唆された。スパイク発生時を除いた河口域の細胞密度の平均は $4,670 \text{ cells l}^{-1}$ であり、この値から求めたヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスは、浮遊性細菌の 1.59% に相当していた。エネルギー転送効率を 10% と仮定した場合、ヤブレッツボカビ類から動物プランクトンに達するエネルギーは、細胞の大きさの違いにより浮遊性細菌に比べ栄養段階を1つ少なくして到達できるため、浮遊性細菌の 15.9% にもなることが予想された。これより、ヤブレッツボカビ類は沿岸環境中の物質循環の中で無視できない影響力をもっていることが推察された。また、分離株の分子系統解析から、10 の未同定または新規の系統群を含む、27 系統群もの存在が明らかになった。河口域と沿岸域では主要系統群が異なっており、それぞれ違う有機物を栄養源としている可能性が考えられた。さらに、それぞれの定点では季節によって出現する系統群が移り変わっていたことから、ヤブレッツボカビ類は系統群ごとに、水温、塩分、栄養源などの環境要因によって棲み分けをしている可能性が示唆された。今までは系統群を区別せずにヤブレッツボカビ類全体をひとくくりにして、その生態が考えられてきたが、予想以上に複雑な生態学的役割が認識された。環境中でのヤブレッツボカビ類の基礎的な情報を蓄積することによって、海洋生態系に対して新たな認識を提唱することができた。

謝辞

本学位論文は、著者が甲南大学 理工学部 生物学科 4 回生の卒業研究から、同大学大学院 自然科学研究科 生物学専攻 修士課程、同大学大学院 自然科学研究科 生命・機能科学専攻 博士後期課程に在学中の7年間、同大学 理工学部 生物学科 本多大輔 教授の指導のもとで系統分類学研究室において行った研究をまとめたものである。

まず、博士学位論文作成にあたり、懇切丁寧なご指導を賜りました本多大輔 教授に心より感謝申し上げます。本研究を行うきっかけを与えて下さり、活発な議論を重ねることによって研究者としてのあり方など、研究全体を通してあらゆる面で厳しくご指導いただき、時にやさしく励ましていただきました。そして、本論文をご精読頂き貴重なコメントをいただきました、甲南大学 理工学部 生物学科 田中修 教授、日下部岳広 教授、渡辺洋平 准教授、久原篤 准教授、同大学 理工学部 機能分子化学科 山本雅博 教授、渡邊順司 教授に深く感謝いたします。

そして、大阪湾での2年間の乗船調査をさせていただき、研究に関して多くのご支援ご助言を賜りました、大阪府立環境農林水産総合研究所 水産研究部海域環境グループ (水産技術センター) グループリーダー 中嶋昌紀 主幹研究員に深く感謝いたします。統計解析方法をご教授いただき、研究に関して多くのご支援ご助言を賜りました、静岡大学大学院 理学研究科 地球科学専攻 木村浩之 准教授に深く感謝いたします。POC, DOC の測定方法をご教授いただいたことを始め、同じラビリントウ類の生態を研究している研究者として活発な議論をさせていただき、多くのご支援ご助言をいただきました、福井県立大学 海洋生物資源学部 海洋生物資源学科 高尾祥丈 講師 (2005 年度 甲南大学大学院 自然科学研究科 生命・機能科学専攻 博士後期課程修了) に深く感謝いたします。学部4年生で卒業研究を始めたときから、多くのご支援ご助言をいただきました、京都大学 生態学研究センター 中野伸一 教授に深く感謝いたします。高度不飽和脂肪酸の合成についてご教授いただき、多くの論文をご紹介いただきました、九州大学大学院 農学研究院 生命機能科学部門 生物機能分子化学講座 海洋資源化学研究室 伊東信 教授に深く感謝いたします。大阪湾での乗船調査で大変お世話になりました、大阪府立環境農林水産総合研究所 水産研究部 の方々、調査船「おおさか」の乗組員の方々に御礼申し上げます。

2008 年度のヤブレッツボカビ類の細胞密度の計数と株の分離同定を共に行い、熱い議論を交わした、甲南大学 理工学部 生物学科 系統分類学研究室 2008 年度 卒業研究生 野村友佳さんに御礼申し上げます。2008 年度のヤブレッツボカビ類の細胞密度の計数を共に行った、同大学 理工

学部 生物学科 系統分類学研究室 2008 年度 卒業研究生 角江智弘くんに御礼申し上げます。サンプリングを共に行い、浮遊性細菌の細胞密度の計数の一部を行って下さった、同大学大学院自然科学研究科 生命・機能科学専攻 系統分類学研究室 博士後期課程2年の土井耕作くんのご尽力によりデータを蓄積することができました。御礼申し上げます。また、共に研究に励んできた系統分類学研究室のすべての皆様に感謝いたします。

最後に、これまで私が思う道を進ませて頂き、温かく見守り、辛抱強く支援して下さいました両親に心より深謝いたします。

なお、本研究の一部は、笹川科学研究助成 (研究番号: 21-717M, 平成 21 年度), 甲南学園平生太郎基金科学研究奨励助成金 (平成 21~23 年度), 日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業 基盤研究(C) (研究課題番号: 23580270, 平成 23~26 年度) によって行われました。

目次

要旨	i
謝辞	ii
目次	iv
1. 序論	1
2. 背景	4
2.1 海洋生態系について	4
2.1.1 基本概念と微生物ループ	
2.1.2 捕食サイズと生態効率	
2.1.3 水域に存在する有機物	
2.1.4 細菌の密度と計数方法	
2.1.5 細菌摂食者	
2.1.6 ウイルス	
2.2 ラビリント菌類について	9
2.2.1 ラビリント菌類の分類	
2.2.2 ヤブレッツボカビ類の酵素活性	
2.2.3 ヤブレッツボカビ類と魚類の高度不飽和脂肪酸生産	
2.2.4 ヤブレッツボカビ類の細胞密度と動態	
2.2.5 ヤブレッツボカビ類の細胞密度調査方法	
2.2.6 ラビリント菌類の寄生	
3. 材料と方法	16
3.1 調査場所と調査期間	
3.2 海水サンプル採集と環境データの収集	
3.3 松花粉 MPN 法によるヤブレッツボカビ類の細胞密度の推定	
3.4 ヤブレッツボカビ類の分離と同定	
3.5 浮遊性細菌の細胞密度の計数	
3.6 夙川河口における, POC, PON, DOC の測定	

4. 結果	22
4.1 夙川河口の結果	22
4.1.1 夙川河口におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度	
4.1.2 夙川河口における浮遊性細菌の細胞密度	
4.1.3 夙川河口の環境データ	
4.1.4 夙川河口におけるヤブレッツボカビ類の構成系統群の組成	
4.1.5 夙川河口におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度と環境要因の相関関係	
4.2 六甲アイランド南岸の結果	26
4.2.1 六甲アイランド南岸におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度	
4.2.2 六甲アイランド南岸の環境データ	
4.3 大阪湾の結果	27
4.3.1 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度	
4.3.2 大阪湾における浮遊性細菌の細胞密度	
4.3.3 大阪湾の環境データ	
4.3.4 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の構成系統群の組成	
5. 考察	29
5.1 ヤブレッツボカビ類の細胞密度ピーク: ヤブレッツボカビ・スパイク	29
5.1.1 ヤブレッツボカビ・スパイクの発生	
5.1.2 ヤブレッツボカビ・スパイク発生の原因	
5.1.3 ヤブレッツボカビ・スパイク終息の原因	
5.1.4 ヤブレッツボカビ・スパイクが発生する仮説	
5.2 ヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマス	33
5.2.1 場所によるヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの違いとその理由	
5.2.2 ヤブレッツボカビ類の生態系における影響力	
5.2.3 ヤブレッツボカビ類が蓄積している高度不飽和脂肪酸の生態的意味	
5.3 ヤブレッツボカビ類の構成系統群の季節変動	36
5.3.1 系統群ごとの出現水温, 塩分の特徴	
5.3.2 ヤブレッツボカビ類の栄養源の推測	
6. 結論	40

引用文献	43
图表	67

1. 序論

1. 序論

水圏生態系では、植物プランクトンを起点としたいわゆる一般的な生食連鎖に加え、細菌による有機物分解を起点とした腐食連鎖である微生物ループが、エネルギー循環において重要な役割を果たしていることが示唆されている (Azam et al. 1983) (図 1)。一方、陸上生態系では、原核生物の細菌だけでなく、カビ・キノコなどの真菌類が、重要な真核生物の分解者として認識されている。しかし、水圏生態系では落葉 (leaf litter) の分解に、真菌類が関わっていることは知られているが、水柱 (water column) ではそれほど大きな真核生物の生態的インパクトは、知られていない (Newell 2003, Kirchman 2008, Sridhar 2012, Wang et al. 2012)。一方、真核従属栄養生物であるヤブレッツボカビ類が、そのバイオマスの大きさと海洋に普遍的に生息していることから、真核生物の分解者として注目されはじめています。

ヤブレッツボカビ類は無色の単細胞で、コロニーを形成する吸収栄養性の生物であり、ストラメノパイル生物群のラビリンチュラ菌綱に属している (Patterson 1989, Porter 1989, Honda et al. 1999, Dick 2001, Adl et al. 2012)。ラビリンチュラ菌綱は外質ネットを伸長するボスロソームと呼ばれる細胞小器官をもつことで特徴付けられており、外質ネットから分解酵素を分泌し、分解することによって、栄養吸収を行っていると言われている (Coleman & Vestal 1987, Raghukumar et al. 1994, Bremer & Talbot 1995, Bongiorno et al. 2005c, Nagano et al. 2011)。ヤブレッツボカビ類は世界中の汽水、沿岸、外洋、深海、熱帯、極域の様々な環境から存在が報告されている (Ulken 1986, Kimura et al. 1999, Raghukumar et al. 2001, Bongiorno et al. 2004, Naganuma et al. 2006) (表 1)。伝統的な分類では、ラビリンチュラ菌綱はヤブレッツボカビ科とラビリンチュラ科の 2 科に分けられている (例えば, Olive 1975, Porter 1989)。近年の分子系統学的解析により、ヤブレッツボカビ類は少なくとも 3 つの系統群に分かれ、ラビリンチュラ類全体では、ヤブレッツボカビ類、オブロンギキトリウム類、アプラノキトリウム類、狭義のラビリンチュラ類の 4 つの系統に分かれることが示されている (例えば, Yokoyama et al. 2007, Tsui et al. 2009, Anderson & Cavalier-Smith 2012)。ただ、本論文では、これら 4 つの全グループをまとめて「広義のラビリンチュラ類」とし、ヤブレッツボカビ類、オブロンギキトリウム類、アプラノキトリウム類の 3 つのグループをまとめて「広義のヤブレッツボカビ類」として表現した (図 2)。広義のヤブレッツボカビ類の 3 つの系統群は、一致する形態的特徴に基づく同様の生活型 (life type) をとるため、本論文では系統学的な分類よりも生態学的な機能を重視したまとまりとして論じた。以後、本論文中でヤブレッツボカビ類と記述しているものは、広義のヤブレッツボカビ類を指す。

ヤブレッツボカビ類の細胞密度については、クルージング調査によって、どこに、どの程度存在しているのかといった空間的な把握が、世界中でなされており、その細胞密度は海洋生態系において無視できない量であることが示唆されている (Kimura et al. 1999, Raghukumar et al. 2001, Bongiorni et al. 2004)。一方、調査頻度は少ないが、ヤブレッツボカビ類の現存量と種組成の季節変動を調査した報告もある (Bongiorni & Dini 2002, Bongiorni & Dini 2004)。ただし、種や属の同定は形態学的な特徴のみでは難しいため、分子系統学的位置の情報がないまま、形態形質から同定を行った過去の報告では、現在の分類体系のどの系統群に属するのかが明確ではない (Yokoyama & Honda 2007)。また近年、環境 DNA をラビリンチュラ類に特異的なプライマーを用いて増幅し、この増幅産物の配列決定を行うことによって、どのような系統群が生息しているのかが調査されている。それにより、今まで知られていなかったラビリンチュラ類の系統群の存在が明らかになった (Collado-Mercado et al. 2010, Li et al. 2013)。さらに最近になり、定量 PCR と特異的プライマーによって、系統群ごとに細胞数を推定する調査が行われているが、検出限界を下回るサンプルが多く、細胞数が十分に把握されたとは言えない状況である (Nakai et al. 2013)。

一方、このようにして計数された細胞密度から換算を行い、ヤブレッツボカビ類の生物量 (biovolume, 体積) と炭素量バイオマス (carbon biomass, 炭素換算した重量) は細菌と比較して、それぞれ 3~43% と 3.4~29.7% にもなるという報告がある (Naganuma et al. 1998, Kimura et al. 1999)。さらに近年ハワイの水柱に生息するヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスは細菌の 0.79~281.0% にもなるという報告もある (Li et al. 2013)。ヤブレッツボカビ類の細胞またはコロニーのサイズは細菌の 85~21,400 倍にもなり、細菌の捕食者よりもさらに高次の捕食者によって捕食されることが予測される (Naganuma et al. 2006)。つまり、ヤブレッツボカビ類から始まる有機物分解は、微生物ループに比べて栄養段階が少なくなるため、少ないエネルギー損失で高次の生物に移行することができる (図 1)。そのため、ヤブレッツボカビ類の生態的影響力は同じ細胞数の細菌よりも大きくなることが予想される (Naganuma et al. 1998, Kimura et al. 1999, Raghukumar 2002)。また、ヤブレッツボカビ類は多くの細菌にとって消化することが難しい、陸上植物由来の難分解性物質を分解するセルラーゼなどの分解酵素を分泌することが知られている (Nagano et al. 2011)。さらにヤブレッツボカビ類は特に河口域に豊富に生息することが知られていることから、陸起源有機物を栄養源とし、細菌とは異なった生態学的役割をもっていることが示唆されている (Kimura & Naganuma 2001)。

また、ヤブレッツボカビ類は成長速度が速く、DHA (ドコサヘキサエン酸, docosahexaenoic acid;

22:6*n*-3), *n*-6 DPA (ドコサペンタエン酸, docosapentaenoic acid; 22:5*n*-6) などの高度不飽和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA) や スクアレンを合成でき、高濃度に蓄積することが知られている (Lewis et al. 1999, Fan et al. 2000, Yokoyama & Honda 2007, Yokoyama et al. 2007, Kaya et al. 2011, Nakazawa et al. 2014)。水圏生態系のエネルギーフローにおいて、脂質は重要な物質として認識されており、特に高次栄養段階に位置する海産の魚類にとっては、高度不飽和脂肪酸は必須脂肪酸である (Tocher 2010)。幼魚に餌として、高度不飽和脂肪酸で栄養強化したアルテミア (甲殻類) を与えたところ、生存率が上がることが報告されている (Furuita et al. 1996)。また、幼魚の餌として与えられる、ワムシ (甲殻類) やアルテミアの栄養強化にヤブレッツボカビ類を利用したところ、実際に DHA 含有量が上がることを示されている (Song et al. 2007, Yamasaki et al. 2007, Castillo et al. 2009)。ヤブレッツボカビ類は海洋生態系において、高度不飽和脂肪酸の供給源として重要な生物である可能性が考えられる。

以上のことから、世界各地でヤブレッツボカビ類の細胞密度が調査されることによって、ヤブレッツボカビ類は海洋生態系において、分解者としての影響力が注目されてきた。しかしながら、どのような系統群が、いつ、どの程度存在しているのかといった経時的な調査はほとんど行われていない。そこで本研究では、次の3つを目的とし、ヤブレッツボカビ類の継続的な細胞密度と、種や属に相当する系統群の構成について、夙川河口、六甲アイランド南岸と大阪湾の定点において、少なくとも月1回の調査を行うことにより、基礎的情報の蓄積を行った。

- 1) 松花粉 MPN 法 (most probable number, 最確数法) を用いて、ヤブレッツボカビ類の細胞密度の季節変動を推定し、生態系における影響力を評価する。
- 2) 場所、時期によって出現するヤブレッツボカビ類の系統群を把握し、生態学的に重要な系統群を明らかにする。
- 3) ヤブレッツボカビ類のバイオマス、構成系統群、その他の生物や環境要因が、それぞれどのように関連しているのかを明らかにし、ヤブレッツボカビ類の生態に関する基礎的な情報を蓄積する。

2. 背景

2. 背景

2.1 海洋生態系について

2.1.1 基本概念と微生物ループ

地球は太陽系の中で唯一大量の水が存在する「水の惑星」である。水域は地球表面の約 71% を占めており、そのうち 97%が海洋である。容積にすると海洋環境は陸地と淡水を合わせた生息環境の約 300 倍にもなる (約 $1370 \times 10^6 \text{ km}^3$)。その海洋生態系を支えている一次生産者は、植物プランクトンである。その中でも珪藻は海の牧草とも呼ばれており、非常に重要な植物プランクトンとして認識されている。その他にも多くの単細胞のプランクトンが生息しており、栄養摂取様式としては、独立栄養性 (autotrophy), 栄養要求性 (auxotrophy), 従属栄養性 (heterotrophy), 混合栄養性 (mixotrophy), 吸収栄養性 (osmotrophy), 取り込み型の摂食栄養性 (phagotrophy), 腐食性 (saprozoic), といった多様な生き方をしており、海洋生態系はこれら微細なプランクトンによって支えられている (Sanders 1991)。

水圏生態系における古典的な食物連鎖の概念は、植物プランクトンが水中の窒素、リンなどの栄養素と水中の二酸化炭素を用いて行う光合成によって炭素固定を行い、これらの一次生産者は植食者である動物プランクトンに捕食され、さらに高次の栄養段階に位置する魚類などに捕食される、いわゆる生食連鎖 (grazing food chain) であった (Steele 1974)。

一方、水圏生態系に存在する有機物は従属栄養細菌によって分解されていると認識されている。このようにして分解された有機物は無機栄養塩類となり、植物プランクトンの生長に使われる。従属栄養細菌は原生生物によって捕食され、原生生物は動物プランクトンに捕食されることによって生食連鎖の流れに組み込まれるという腐食連鎖 (detritus food chain) の概念が Pomeroy (1974) によって示された。その後、微生物ループ (microbial loop) という用語が Azam ら (1983) によって初めて提案された。この微生物ループが物質循環に重要な役割を担っていることが明らかになってきている (Azam et al. 1983, Porter et al. 1985, Fenchel 1988, Lampert & Sommer 1997, Pomeroy et al. 2007, Fenchel 2008)。このように現在は、海洋生態系における有機物の分解者としては、従属栄養細菌が大きく注目されており、従属栄養細菌を起点とした、微生物ループという物質循環の重要性が認識されている (図 1)。

2.1.2 捕食サイズと生態効率

微生物生態学の現場ではサンプル処理の操作の現実性から、プランクトンは一般的にそのサイズで分けられている。すなわち、フェムトプランクトン (0.02~0.2 μm), ピコプランクトン (0.2~2.0 μm), ナノプランクトン (2.0~20 μm), ミクロプランクトン (20~200 μm), メソプランクトン (0.2~20 mm), マクロプランクトン (2~20 cm), メガプランクトン (20~200 cm) として、扱われている。基本的には栄養段階が1段階上がるごとに、捕食者のサイズは被食者よりおよそ1桁程度大きくなることが知られている。つまり、一般的に被食者：捕食者のサイズ比は1:10となる (Azam et al. 1983)。一方、生態系の中で比較的高次のカイアシ類 (甲殻類) の場合は体長3 mmほどだが、直径30-50 μm の粒子を摂餌することが報告されている (Uye 1986)。生物によって、被食者と捕食者のサイズ比が異なっていることも報告されている (Hansen 1994)。また、栄養段階間のエネルギー転送効率は、一般に、低次栄養段階間では20%程度、高次栄養段階では10~15%と言われている (Ryther 1969)。つまり、栄養段階数が増えれば増えるほど、エネルギー損失が大きくなるので、出発点がサイズの大きい生物であるほど、エネルギーは頂点の生物に効率よく転送される。瀬戸内海では、一次生産から二次生産への転送効率は28%、二次生産から三次生産への転送効率は25%と、一般的に示されている転送効率より高く、植物プランクトンの生産が効率よく動物プランクトンに転送されていることが明らかになり、これが瀬戸内海の豊かさを支えていると考えられている (上 2006)。

2.1.3 水域に存在する有機物

水域に存在する有機物は大きさによって、溶存態有機物 (dissolved organic matter, DOM) と、懸濁態有機物 (particulate organic matter, POM) に便宜的に分けられており、濾過するフィルター孔径より大きいものが懸濁態有機物、小さいものが溶存態有機物と定義されている (Nagata & Kirchman 1997, Nagata 2008)。このフィルターには、ワットマン社のGF/Fフィルター (孔径0.7 μm) が用いられていることが多く、浮遊性の従属栄養細菌の多くはフィルターを通り抜けてしまうため、溶存態有機物に分類される傾向にある。一方、懸濁態有機物はフィルターを通過できない生物体そのものも含んでいる。懸濁態有機物も溶存態有機物にも、生物体有機物と非生物態有機物があるが、どちらも非生物態有機物の方が圧倒的に多い。また、海洋に存在する有機物の95%以上は溶存態有機物であるが、そのうち90%以上は、数千年以上の滞留時間をもつ難分解性有機物であると推測されている (Volkman & Tanoue 2002, 永田 2006, 山下ら 2006)。一方、懸濁態有機物は全有機物の5%程度しか占めないが、従属栄養細菌によって迅速に分解、無

機化されるため、海洋生態系において重要な役割をもっている (横川 2011)。また、表層水中の DOM, デトライタス (detritus, 生物の死骸, 排泄物が分解された粒子状の有機物), プランクトン (plankton) の炭素量の割合は, DOM : デトライタス : plankton = 200 : 10 : 1 という報告もある (Nagata 2008)。

溶存態有機物の生成機構は以下の3つが主に考えられている (Nagata 2000, 永田 2006)。1つ目は、植物プランクトンによる光合成産物の細胞外排出であり、全海域の平均は海洋に存在する溶存態有機炭素 (dissolved organic carbon, DOC) の13%にもなる。海洋表層においては一次生産の約50%が溶存態有機物として微生物ループに流れていると推測されている。2つ目は、鞭毛虫や繊毛虫といった原生動物 (protozoa) や、動物プランクトンなどによる捕食過程における排出であり、未消化の餌成分や捕食過程の損傷によって放出された細胞内容物である。原生動物は捕食した有機物の10~30%を溶存態有機物として排出し、動物プランクトンの場合は10~20%に相当する量が排出される。また、糞粒も溶存態有機物として重要である。3つ目はウイルス感染による細胞破壊にともなう放出である。様々な細菌や藻類がウイルス感染によって死滅することが知られてきている。この感染によって懸濁態有機物 (生物体) は溶存態有機物に変換される (2.1.6 に詳述)。

一方、生物体以外のデトライタスとしての懸濁態有機物は、微小コロイドから、植物プランクトン等から放出される酸性多糖類 (transparent exopolymer particle, TEP), 肉眼で観察可能な大きさにまでなった不定形のデトライタスであるマリンスノーまで $10^2 \sim 10^5 \mu\text{m}$ の幅広いサイズのもが存在しており、サイズによって沈降速度が異なってくる (小池 2006)。沈降する懸濁態有機物のほとんどは、海底にたどり着くまでに分解され溶存態有機物となる (横川 2011)。

2.1.4 細菌の密度と計数方法

海洋水柱中に生息している細菌のうち、懸濁態有機物に付着している、粒状物付着細菌 (particle-associated bacteria) は通常数%以下と報告されており、残りは浮遊細菌 (free-living bacteria) として溶存態有機物を利用して生息している (満谷 2005)。

細菌の細胞数の計数には蛍光顕微鏡を用いた直接計数法がよく用いられている (Ducklow 2000, 浜崎 2006)。核染色剤として、アクリジンオレンジ (acridine orange) が最初に用いられたが (Hobbie et al. 1977), 現在は DNA に対する特異性が高く非特異的な染色が少ない、4',6'-ジアミジノ-2-フェニルインドール二塩酸塩 (4',6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride, DAPI) (Porter & Feig 1980) が一般的によく用いられている。その他、Hoechst 33258 (Paul 1982) や、SYBR Green I (Noble & Fuhrman 1998) を用いて染色もされている。さらに近年、フローサイトメ

ーターを使用した計数も行われており (del Giorgio et al. 1996), 蛍光顕微鏡に比べて迅速性や再現性に優れているが, 粒状物付着細菌を正確に計数することは困難である。

海水中の細菌数は, 貧栄養外洋域で 10^5 cells ml⁻¹, 沿岸域で 10^6 cells ml⁻¹, 富栄養化した汽水域で 10^7 cells ml⁻¹ 程度である (浜崎 2006)。深層水では 10^3 cells ml⁻¹ 以下になることもある。また, Fukuda ら (1998) によって培養を経ない自然細菌群集の炭素含有量の直接測定が行われ, 外洋域で 12.4 ± 6.3 fg C cell⁻¹, 沿岸域では 30.2 ± 12.3 fg C cell⁻¹ という値が報告されている。

2.1.5 細菌摂食者

細菌は主に原生生物の鞭毛虫や繊毛虫, 尾索動物の尾虫類とウミタル類, 細菌捕食性細菌によって捕食され, 一般にカイアシ類やオキアミ類などの濾過食動物プランクトンは濾過用の付属肢が粗すぎて捕食することができない (満谷 2005, 中野 2006, 太田 2008, 鈴木ら 2008)。

従属栄養性微小鞭毛虫 (heterotrophic nanoflagellate; HNF) は大きさが $2 \sim 20$ μ m で, 海洋における細菌捕食者として最も重要な役割をはたしていることが, 1970 年代以降明らかにされてきた (Sanders et al. 1992, 中野 2000, 2003)。鞭毛虫は $1 \sim 8$ 本の鞭毛を持ち, 浮遊生活または基質に付着して生息し, 細菌やデトライタス, 微細藻類などを摂食し, 光合成を行うものも存在する。摂食方法としては, 濾過摂食 (filter feeding), 捕獲摂食 (raptorial feeding, direct interception), 拡散摂食 (diffusion feeding: 偶然的な付着を待つ待ち伏せ型) である。海洋の浮遊鞭毛虫は, $10^1 \sim 10^5$ cells ml⁻¹ の密度で生息している (Sanders et al. 1992)。さらに近年, 海洋では大きさが 2 μ m 以下の従属栄養ピコ鞭毛虫の現存量が高いことが報告され, 18S rRNA 遺伝子を用いた分子系統解析が進んでいる (Lopez-Garcia et al. 2001, Moon-van der Staay et al. 2001)。

海洋の繊毛虫にはロリカという殻をもつ有鐘繊毛虫 (loricated ciliates) と, 殻を持たない無殻繊毛虫 (aloricated ciliates) がある。繊毛虫の大きさは 10 μ m ~ 1 mm で, 大型の原生生物であり, 浮遊生活をしたり, 運動性を持っていたり, 基質に付着したりして生息している。浮遊性の繊毛虫の大きさは $10 \sim 200$ μ m である。濾過摂食または捕獲摂食を行い, デトライタス, 細菌, 微細藻類, 原生生物, 弱ったり傷ついたりした甲殻類や魚類から栄養摂取する。海洋の浮遊繊毛虫は沿岸海域から外洋にかけて $10^0 \sim 10^3$ cells ml⁻¹ が生息している (Carlough & Meyer 1989)。被食者と捕食者のサイズ比はおよそ $1:10$ の関係が成り立つとされており (Azam et al. 1983), 繊毛虫の場合も, 被食者 (飼料): 捕食者 (繊毛虫) の最適サイズ比は $1:10$ と言われている。つまり, $2 \sim 20$ μ m のナノプランクトンや $0.2 \sim 2$ μ m のピコプランクトンが好適餌サイズとなる (例えば Jonsson 1986, Rassoulzadegan et al. 1988)。

尾虫類とウミタル類は, 海洋においてピコプランクトンを効率よく濾過摂食を行うことがで

きる海洋後生生物である (Deibel & Powell 1987)。しかしながら、細菌摂食者としての生態系全体における重要性はほとんど明らかになっていない。さらに、細菌捕食性細菌による細菌摂食も知られているが、海洋の浮遊細菌についてはどの程度行われているのか明らかになっていない。

2.1.6 ウイルス

海洋や湖沼の水圏環境中には、1 ml あたり $10^7 \sim 10^9$ 個という多くのウイルスが存在している (Bergh et al. 1989, 満谷 2005, 原 2006, 中野 2012)。ウイルス遺伝子の核酸タイプとして、核酸が DNA か RNA か、構造が 1 本鎖か 2 本鎖によって 4 種類が存在する。海洋のウイルスの多くは細菌や藍藻といった原核生物を宿主とするファージであり、次いで多いのが真核生物の微細藻類に感染するウイルスである (Suttle 2005)。ウイルスは種特異性が高く、ある種が増殖するとその種を特異的に減少させる、「kill the winner」と呼ばれる現象が見られる (Thingstad 2000)。珪藻 *Chaetoceros debilis* (Tomaru et al. 2008b), ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* (Nagasaki et al. 1994, Tomaru et al. 2008a), 円石藻 *Emiliana huxleyi* (Schroeder et al. 2002), 渦鞭毛藻 *Heterocapsa circularisquama* (Nagasaki et al. 2004), ラビリントウモロコシ類 *Aurantiochytrium* sp. (Takao et al. 2005), *Sicyoidochytrium minutum* (Takao et al. 2007) に感染するウイルスなどが単離されている。ウイルスが細菌や真核微細藻類などに感染して死滅させることによって、本来生食連鎖に流れるはずだった懸濁態有機物が溶存態有機物に変換される。有機物が本来とは別の経路に流れていくことから「viral shunt」と呼ばれている (Suttle 2005)。また、この溶存態有機物が微生物ループの中で循環することから「viral loop」とも呼ばれている (Bratbak et al. 1992, Fuhrman 1999, 鏡味 2012, 中野 2012) (図 1)。このように、微生物ループにウイルスが加わったことにより、物質循環の認識はさらに複雑になってきている。

2.2 ラビリンチュラ類について

2.2.1 ラビリンチュラ類の分類

ラビリンチュラ類は栄養細胞と遊走細胞の世代がある。遊走細胞は長短 2 本の鞭毛をもっており、前鞭毛のみ 3 部構成の管状小毛をもっている (Amon & Perkins 1968, Kazama 1974, Perkins 1974)。この特徴から、ラビリンチュラ類は、ストラメノパイル生物群に属している [stramenopiles: Patterson 1989, Adl et al. 2005, 2012, Kingdom Straminipila: Dick 2001, Phylum Heterokonta (= stramenopiles): Cavalier-Smith 1981, Baldauf 2003]。ストラメノパイル (stramenopiles) とは、stramen = straw = 麦わら, pilus = 毛が語源であり、中空の鞭毛小毛をもつことで特徴づけられている。ストラメパイル生物群には他に、珪藻類, 褐藻類, 卵菌類などが属している。ラビリンチュラ類は、門レベルの分類群として認識されていたこともあったが (Labyrinthomorpha: Levine et al. 1980, Labyrinthulomycota: Porter 1989), 綱レベルでの認識が一般的になってきており、ラビリンチュラ菌綱 (植物命名規約上: Labyrinthulomycetes / 動物命名規約上: Labyrinthulea) (Olive 1975, Cavalier-Smith 1986, Dick 2001, Adl et al. 2012), ラビリンチュラ目 (Labyrinthulales), ヤブレッツボカビ目 (Thraustochytriales) の 2 目 (Dick 2001), ラビリンチュラ科 (Labyrinthulaceae / Labyrinthulidae), ヤブレッツボカビ科 (Thraustochytriaceae / Thraustochytriidae) の 2 科に分類されてきた (例えば, Porter 1974, Olive 1975, Porter 1989)。しかしながら近年の分子系統解析によると、ヤブレッツボカビ科は単系統を形成せず、アプラノキトリウム類 (aplanochytrids), オブロンギキトリウム類 (oblongichytrids), 狭義のヤブレッツボカビ類 (thraustochytrids) の少なくとも 3 つの系統群から構成されており、狭義のラビリンチュラ類 (labyrinthulids) を含めて、ラビリンチュラ類全体としては、少なくとも 4 つに分かれることが示唆されている (例えば, Yokoyama et al. 2007, Tsui et al. 2009) (図 2)。さらに、最近になって主に淡水から分離されている Diplophryidae, Amphitremidae, Amphifilidae, Sorodiplophryidae といった科もラビリンチュラ類として認識されるようになってきている (Anderson & Cavalier-Smith 2012, Goma et al. 2013, Takahashi et al. 2014)。

狭義のラビリンチュラ類は現在、1 属 *Labyrinthula* 属 (Cienkowski 1867) のみが記載されている。細胞は紡錘形をしており、細胞表面に複数あるボスロソーム (bothrosome = サジェノジェネットソーム: sagenogenetosome, サジェノジェン: sagenogen) から伸張している外質ネット (ectoplasmic net) によって包まれており、細胞はその中を滑るようにして動く。一方、広義のヤブレッツボカビ類は現在、11 属 *Althornia* 属, *Aplanochytrium* 属, *Aurantiochytrium* 属, *Botryochytrium* 属, *Japonochytrium* 属, *Oblongichytrium* 属, *Parietichytrium* 属, *Schizochytrium* 属, *Sicyoidochytrium* 属, *Thraustochytrium* 属, *Ulkenia* 属が記載されている (Yokoyama & Honda 2007, Yokoyama et al.

2007)。ヤブレッツボカビ類は細胞が球形から楕円形で直径が5~20 μm であり、1カ所だけあるボスロソームから外質ネットを伸長させ基物や宿主細胞に着生する (本多 2001)。外質ネットからは分解酵素を分泌して分解することによって、栄養分を吸収していると考えられている (Moss 1980, 1985; Perkins 1972; Porter 1972, 1974; Bremer 1995)。ヤブレッツボカビ類は主に生活史パターンと光学顕微鏡下で見られる形態学的特徴の違いで分類されてきたが、細胞ほどの系統群も球形で、1つの株でも複数の分裂様式を持っており、培地によっても変化するため、分類が難しい。Yokoyama & Honda (2007), Yokoyama ら (2007) は、ラビリンチュラ類の属の再編成を行い、形態形質に基づく属の分類が18S rRNA 遺伝子配列による系統群とほぼ一致するように整理した。生態学的な立場からすると、この整理によって18S rRNA 遺伝子配列を決めることで、系統群を把握することができるようになった。

2.2.2 ヤブレッツボカビ類の酵素活性

ラビリンチュラ類では様々な酵素活性が調べられており、多くの細菌が分解できないような難分解性の有機物を分解できることが知られている。Raghukumar ら (1994) は *Aurantiochytrium mangrovei* にポリガラクトナーゼ (polygalacturonase: ペクチン加水分解酵素), ペクチンリアーゼ (pectin lyase: ペクチン脱離反応による分解酵素), アミラーゼ (amylase: 糖のグリコシド結合加水分解酵素), プロテアーゼ (protease: ペプチド結合加水分解酵素), セルラーゼ (cellulase: セルロースを構成するグリコシド結合加水分解酵素), キシラナーゼ (xylanase: キシランの β -1,4 結合加水分解酵素), の活性があることを示した。Bremer (1995), Bremer & Talbot (1995) は, *Schizochytrium aggregatum* にセルラーゼ活性があることを示した。Taoka ら (2009) は, *Aurantiochytrium limacinum*, *S. aggregatum*, *Thraustochytrium striatum*, *T. roseum*, *T. aureum* のプロテアーゼ (カゼイン加水分解テスト), アミラーゼ (デンプン加水分解テスト), リパーゼ (lipase: 脂質を構成するエステル結合加水分解酵素, tween 80 加水分解テスト), ゼラチナーゼ (gelatinase: ゼラチンタンパク質加水分解酵素, ゼラチン液化テスト), ウレアーゼ (urease: 尿素加水分解酵素), ホスファターゼ (phosphatase: 脱リン酸化酵素), セルラーゼ, キチナーゼ (chitinase: キチン加水分解酵素), α -グルコシダーゼ (glucosidase: α -1,4-グリコシド結合加水分解酵素) の活性を調べた。Nagano ら (2011) は, *Aplanochytrium*, *Botryochytrium*, *Oblongichytrium*, *Parietichytrium*, *Schizochytrium*, *Sicyoidochytrium*, *T. aureum*, *T. roseum*, *Ulkenia* にはセルラーゼ活性があり, *Au. limacinum*, *Au. mangrovei* にはセルラーゼ活性がないことを示した。特に, *S. aggregatum* は他の属に比べてセルラーゼ活性が高いことが報告されている。

2.2.3 ヤブレッツボカビ類と魚類の高度不飽和脂肪酸生産

ヤブレッツボカビ類は増殖速度が速く、 $n-6$ DPA, DHA などの高度不飽和脂肪酸や、アスタキサンチン (カロテノイド色素) やスクアレン (squalene) を高濃度に蓄積することが知られており、産業的にも注目されている。これらの脂質をより多量に蓄積し、早く増殖させるために、新たな株の取得や、培養条件の検討、分子育種が盛んに行われている (Bajpai et al. 1991a, b, Nakahara et al. 1996, Yokochi et al. 1998, Lewis et al. 1999, Fan et al. 2000, Raghukumar 2002, Yokoyama & Honda 2007, Yokoyama et al. 2007, Kaya et al. 2011, Matsuura et al. 2012, Nakazawa et al. 2012a, b, Sakaguchi et al. 2012, Nakazawa et al. 2014)。

一般的に海産の魚は EPA (エイコサペンタエン酸, eicosapentaenoic acid; $20:5n-3$) や DHA を豊富に蓄積していると言われているが、海産魚類はそれらを自身で合成することはできないため、食物から取り入れて生態濃縮によって蓄積していると考えられている。また、陸上の高等植物も EPA や DHA のような長鎖の $n-3$ 系高度不飽和脂肪酸を合成する能力はもっておらず、海洋生態系においても、陸上生態系においても高度不飽和脂肪酸は重要な物質である。

EPA や DHA を合成する光独立栄養生物 (photoautotrophic organisms) や、従属栄養生物 (heterotrophic organisms) はいくつか知られているが、その中でも特に、ナンノクロロプシス (*Nannochloropsis oculata*, 真眼点藻類, Eustigmatophyceae), クリプト藻類 (Cryptophyceae), 珪藻類 (Bacillariophyceae) は EPA を多く蓄積する (Zhukova & Aizdaicher 1995, Pratoomyot et al. 2005, Gladyshev et al. 2013)。一方、ラビリントチュラ類は EPA も蓄積するが、特に DHA を多く蓄積する傾向がある (Nakahara et al. 1996, Yokochi et al. 1998, Yokoyama et al. 2007)。

淡水魚、回遊性魚類 (一生のうち淡水と海水を移動する) は、 C_{18} 高度不飽和脂肪酸が必須脂肪酸である一方、海水魚は C_{20} 以上の長鎖の高度不飽和脂肪酸 [LC (long-chain) -PUFA: アラキドン酸 ARA (Arachidonic acid); $20:4n-6$, EPA; $20:5n-3$, DHA; $22:6n-3$ など] が必須脂肪酸であるものが多い (Tocher 2010)。一般的に真核生物においては、長鎖の高度不飽和脂肪酸は C_{18} 高度不飽和脂肪酸である、リノール酸 ($18:2n-6$) と α -リノレン酸 ($18:3n-3$) の不飽和化 (desaturation) と伸長 (elongation) によって合成される。アラキドン酸はリノール酸の $\Delta 6$ 不飽和化 (カルボキシル基側から数えて 6 番目の C を二重結合化) によってできた γ -リノレン酸 ($18:3n-6$) を伸長し、ジホモ γ -リノレン酸 ($20:3n-6$) になったものを、 $\Delta 5$ 不飽和化することによって合成される。EPA も α -リノレン酸 ($18:3n-3$) をスタートとして ARA と同様に合成される。一方、DHA は、EPA から 2 回の伸長反応の後に、 $\Delta 6$ 不飽和化、ペルオキシソームによる短鎖反応によって合成されることと、EPA から 1 回の伸長反応と $\Delta 4$ 不飽和化によって合成されていることが報告されている (Sprecher 2000, Warude et al. 2006, Bell & Tocher 2009, Meesapyodsuk & Qiu 2012)。海水魚は脂肪酸合成経路の ETA (エイコサテトラエン酸, Eicosatetraenoic acid; $20:4n-3$) を EPA に変

換する (または、ジホモγ-リノレン酸を ARA に変換する), Δ5 不飽和化酵素が欠損または活性が弱いため, 必要十分な EPA や DHA の高度不飽和脂肪酸を自身で合成できないのではと考えられている (Bell & Tocher 2009)。そのため, EPA や DHA を餌料から摂取しなければならず, それらの含有は生存を左右する大きな要因であることが, 多くの魚類で明らかにされている。さらに DHA の要求量は魚種特異性があることも明らかになってきている (竹内 1991, 齋藤 1996, 佐藤 & 竹内 2009, 竹内 2009, Takeuchi 2014)。そのようなことから, n-6 DPA, DHA などの高度不飽和脂肪酸を蓄積するラビリントウ類は, 海産魚類に対する高度不飽和脂肪酸の供給源の候補として考えられている。

また, 海産魚の養殖の現場では, 孵化直後の仔魚は DHA が必要不可欠であることから, 人工配合飼料のみで飼育することは困難であるため, 一般的には人工配合飼料に加えて, 孵化直後からシオミズツボウムシ (*Brachionus rotundiformis*) で飼育され, 孵化後 10 日~2 週間目頃からアルテミア (*Artemia salina* など) も併用される。ウムシはナンノクロロプシス, パン酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*), 淡水クロレラ (*Chlorella vulgaris*) で培養されるが, これらはいずれも DHA を含有しないために, 培養したウムシも DHA を含有していない。そのため, DHA を与え, ウムシ中に蓄積させることによって, 栄養強化処理を行っている。アルテミアは乾燥卵を海水に投入し, 孵化したアルテミア幼生をウムシと同様に栄養強化処理を行った後に, 給餌している (林 & 松本 2001, Takeuchi 2014)。

このウムシの栄養強化に, DHA を豊富にもつヤブレッツボカビ類を利用する研究が行われており, 栄養強化に成功している (Barclay & Zeller 1996, 林ら 2002, Hayashi et al. 2007, Song et al. 2007, Yamasaki et al. 2007, Castillo et al. 2009)。また, DHA による栄養強化をしたウムシを与えた仔魚の生存率の上昇も確認されている (Izquierdo et al. 1989, Watanabe et al. 1989a, b, Yoshimatsu et al. 1997, 石橋 1997, 竹内ら 1998)。

2.2.4 ヤブレッツボカビ類の細胞密度と動態

ラビリントウ類は熱帯, 亜熱帯のマングローブ域から極域, 河口から外洋, 表層から深海にまで世界中に存在していることが報告されている。主に $0\sim 10^4$ cells l^{-1} 程度の細胞密度が多く, 現在報告されている中で最大の値は, アラビア海の水柱サンプルをアクリフラビン直接計数法で計数した 1.31×10^6 cells l^{-1} であった (Raghukumar et al. 2001, Ramaiah et al. 2005)。

瀬戸内海におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度は広島大学の長沼らのグループによって, アクリフラビン直接計数法を用いて複数回調査されている。1 例目は, 1997 年 6 月 11~15 日に主に大阪湾から紀伊水道をクルージングした調査で, 平均細胞密度は $1.03 \pm 1.10 \times 10^4$ cells l^{-1} であ

り、ヤブレッツボカビ類の生物量は浮遊性細菌の3~40%にも達することが報告された (Naganuma et al. 1998)。2例目は1998年6~7月に瀬戸内海と日向灘をクルージングした調査で、平均細胞密度は 1.59×10^4 cells l⁻¹ であり、浮遊性細菌の炭素量バイオマスにおけるヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスは3.4~29.7%を占め、平均約14%になることが推定された。細菌類の捕食者である原生生物と同程度の細胞サイズであるヤブレッツボカビ類は、より少ない栄養段階を経て生態的に上位となる生物にエネルギーを転送することができる。そのため、食物連鎖の中で分解者として果たす影響は、浮遊性細菌との細胞数の比よりも大きい可能性が示唆された。また、分離した株は、18S rRNA 遺伝子配列の Ribosomal Database Project (RDP) 検索によって *Ulkenia* と *Thraustochytrium kinnei* が高い値で適合した (Kimura et al. 1999)。3例目は2000年7~9月に瀬戸内海をクルージングした調査で、平均細胞密度は 3.11×10^3 cells l⁻¹ であり、ヤブレッツボカビ類はクロロフィル濃度との相関が低く、懸濁態有機物 (particulate organic carbon, POC) との相関が高いことから、ヤブレッツボカビ類がデトライタスや陸起源有機物を栄養源としていることを示唆した (Kimura et al. 2001)。4例目は、1999年2~3月の四万十川河口における調査で、河川水の影響を受けている地点での平均細胞密度は $3.5 \pm 0.2 \times 10^3$ cells l⁻¹、河川水の影響を受けていない地点での平均細胞密度は $1.8 \pm 0.7 \times 10^3$ cells l⁻¹ であり、河川水の影響を受けている海域の方がヤブレッツボカビ類の細胞密度が高いことから、ヤブレッツボカビ類は陸起源有機物を栄養源として生育している可能性を示唆した (Kimura & Naganuma 2001)。これらの調査により、瀬戸内海とその周辺の海域には、ヤブレッツボカビ類が豊富に生息していることが示された。しかしながら、これらはすべてクルージングによる調査であるため、年間を通したときに、どのように細胞密度が変動しているのか、どのような系統群が消長しているのかは明らかになっていない。

さらに、ラビリンチュラ類に感染する2種類のウイルスが分離されており、その変動から宿主であるラビリンチュラ類の季節変動の傾向が異なることが示唆されている (高尾 2007)。小型球形ウイルス SssRNAV タイプは *Heterosigma akashiwo* の赤潮終息後に急増したことから、SssRNAV タイプが感染する N1-27 株系統群 (*Aurantiochytrium* sp.) は赤潮終息期の弱った藻体・死骸を積極的に利用すると考えられた。大型不定形ウイルス ThDNAV タイプは赤潮による影響が見られないことより、ThDNAV タイプが感染する 11071 株 (*Sicyoidochytrium* sp.) は赤潮終息期に放出される有機物を利用しないと考えられた。一方、このタイプは塩分濃度低下後に増加傾向になることが見られたことから陸源有機物分解型だと考えられた。ただし、いまだにラビリンチュラ類に感染するウイルスはこの2種しか分離されておらず、変動を推測できる系統群に限りがあるのが現状である。

2.2.5 ヤブレッツボカビ類の細胞密度調査方法

主なヤブレッツボカビ類の細胞数計数方法としては、Gaertner (1968) によって開発された、松花粉 MPN 法と Raghukumar & Schaumann (1993) によって開発されたアクリフラビン直接計数法 [acriflavine direct detection (AfDD) method] がある。松花粉 MPN 法はヤブレッツボカビ類の遊走細胞が松花粉への走性を示すことを利用した松花粉釣り餌法と、希釈系列を作製し培養を行い計測する MPN 法とを組み合わせた方法である。遊走細胞は多糖類やアミノ酸や葉の抽出物に対して反応を示すことが報告されている (Fan et al. 2002)。この方法は、生細胞のみを計数でき、同時に計数の過程で寒天培地上に出現したコロニーを分離することにより、分離株を取得することができるという利点がある。また、松花粉 MPN 法は適切な希釈系列と各段階の本数を選択することにより、信頼のあるデータを得ることができると言われている (Bongiorni & Dini 2002)。欠点としては、松花粉への走性や寒天培地上での増殖が前提となるため、増殖できなかったヤブレッツボカビ類が存在した場合、過小評価になる可能性がある。また、7日間程度の培養を経るため細胞密度の把握までに時間がかかる。一方、アクリフラビン直接計数法は、アクリフラビンという色素でヤブレッツボカビ類の細胞壁に特異的に存在する硫酸多糖を染色し、蛍光顕微鏡下で直接計数する方法である (Chamberlain 1980, Raghukumar & Schaumann 1993)。アクリフラビンで染色すると、ヤブレッツボカビ類の細胞壁はオレンジ～赤に、核は黄色～緑色に染色されることにより、他の染色物と見分けることができる。この方法では、培養できないヤブレッツボカビ類も計数できる一方、ゴミなどで見分けがつきにくく誤同定の可能性があったり、遊走細胞や細胞壁が薄い細胞は染色されにくく計数できなかったりする欠点がある。また、生細胞と死細胞の区別をつけることも難しい。さらにこの方法では、ヤブレッツボカビ類を分離、同定することはできない。以上のようにこれらの 2 つの方法はそれぞれ利点、欠点がある。また、松花粉 MPN 法はアクリフラビン直接計数法に比べ、過小評価になる可能性が高いことも知られている (Raghukumar & Schaumann 1993, Raghukumar 2002, Nakai et al. 2013, Li et al. 2013) (表 1)。

さらに近年では、これらの 2 つの方法以外に、環境 DNA からラビリンチュラ類に特異的なプライマーを用いて DNA を増幅させ、クローニングすることによって構成系統群が調べられている (Collado-Mercado et al. 2010, Li et al. 2013)。系統群特異的プライマーを用いて定量 PCR (quantitative PCR, qPCR) を行うことによって、系統群ごとの細胞数の推定もなされている (Nakai et al. 2013)。ただし、どの方法も一長一短があるため、複数の方法を組み合わせて自然環境中のラビリンチュラ類の細胞数や系統群を把握していくことが必要である。

2.2.6 ラビリンチュラ類の寄生

ラビリンチュラ類は水柱や泥だけでなく、アマモなどの海草、紅藻、緑藻、褐藻、珪藻などの他に、二枚貝などの軟体動物からも分離されており、それらを分解できることが確認されている (表 2)。狭義のラビリンチュラ類であるラビリンチュラ属は、特にアマモ類などの単子葉植物から分離されることが多く、ゴルフ場などの芝から分離されたこともある (Bigelow et al. 2005)。また、ラビリンチュラ属は植物防疫法施行規則の有害植物に指定されている (http://www.pps.go.jp/law_active/Notification/basis/5/245/html/245.html#t2)。ヤブレッツボカビ類も様々な基質から分離されている。マングローブ葉の分解能力をもっていることも示されていることから、陸起源有機物も分解できると予想される。二枚貝に寄生する quahaug parasite X (QPX) は病原生物として警戒されている (Whyte et al. 1994, Calvo et al. 1998)。扁形動物からは、*Thraustochytrium caudiborum* という種が分離されている (Schärer et al. 2007)。透明な体をもった微小海洋被嚢類 (salps) の糞粒上での存在も確認されている (Raghukumar & Raghukumar 1999)。in situ hybridization 法によって、動物プランクトンのカイアシ類の腸管にアプラノキトリウム類が検出されており (Damare & Raghukumar 2010)、ヤブレッツボカビ類が動物プランクトンに捕食されている可能性を示唆している。このように広義のラビリンチュラ類は、水柱だけでなく基質上でも、寄生者や被食者として大きな影響を及ぼす生物である可能性が考えられている。

3. 材料と方法

3. 材料と方法

3.1 調査場所と調査期間

瀬戸内海は本州，四国，九州に囲まれた日本最大の内海であり，北に中国山地，南に四国山地があるため，一年中晴天が多く，温暖で降水量が少ない（年間平均降水量，約 1,000～1,600 mm）。瀬戸内海には複数の河川が流入しており（658 水系）豊富な有機物供給があること，半閉鎖系水域であるため海水や物質の滞留時間が長いこと，平均水深 38 m と浅く光合成生物が豊富に生息していること，大小 727 もの島があり，魚の生息環境が豊富であることから，高い生物生産があり，豊かな生態系をもっている（http://www.env.go.jp/water/heisa/heisa_net/setouchiNet/seto/kankyojoho/index.html）。

このような瀬戸内海の東の端に位置している大阪湾をフィールドとして，河川水の影響が異なる 4 ヶ所を選択し，定期的なサンプリング調査を行った。1 ヶ所目は兵庫県西宮市に位置する夙川河口（34° 43.35' N, 135° 20.00' E）で調査を行った（図 3, 4）。夙川河口は東六甲山のごろごろ岳（565 m），カベノ城（483 m）などの山を水源とし，西宮市を流れて大阪湾に注ぐ，流域面積 8.5 km²，河川延長約 4.1 km の二級河川である（<https://web.pref.hyogo.lg.jp/wd15/documents/106shuku.pdf>）。サンプリング地点は河口から 400 m ほど海岸線沿いに東の場所である。夙川河口でのサンプリングは 2008 年 3 月 14 日～2013 年 9 月 19 日の約 6 年間，2～4 週間ごとに行い，全 100 回の調査を行った。夙川河口は，小魚，カニ，貝，アオサ，ボウアオノリなどの動物や海藻が生息する小さな干潟が広がっており，冬にはユリカモメなどの渡り鳥が飛来してくる場所である。

2 ヶ所目は兵庫県神戸市東灘区に位置する大阪湾上の人工島である六甲アイランドの南岸で行った（34° 40.80' N, 135° 16.40' E）（図 3, 4）。六甲アイランド南岸は護岸されており，岸壁には多数ムラサキガイが付着していた。近くにはコンテナターミナルがあり，大型貨物船が往来する場所であり，沖には防波堤が設置されている。調査期間は 2008 年 3 月 1 日～2011 年 1 月 6 日の約 3 年間であり，2～4 週間ごとに全 63 回の調査を行った。

残りの 2 ヶ所は大阪湾の湾奥に位置する Station 8 (Sta. 8: 34° 29.95' N, 135° 10.73' E) と 湾奥に位置する Station 15 (Sta. 15: 34° 36.00' N, 135° 17.75' E) で行った（図 3, 4）。定点番号は大阪府立環境農林水産総合研究所が行っている浅海定点調査の定点番号に準じている。Sta. 15 は，大阪湾に流入する流量が一番多い淀川の河口から約 15 km 離れた地点であり，降雨による河川水の

出水の影響を受ける場所である。一方、Sta. 8 は淀川河口から約 30 km 離れており、大雨時以外は河川水の影響をほとんど受けない場所である。淀川は滋賀県の琵琶湖を源とし、流域面積 8,240 km²、幹川流路延長 75 km の一級河川である (http://www.mlit.go.jp/river/basic_info/jigyo_keikaku/gaiyou/seibi/pdf/yodogawa60-1.pdf)。大阪湾でのサンプリングは大阪府立環境農林水産総合研究所の調査船「おおさか」に乗船させていただき、2011 年 3 月 7 日～2013 年 2 月 1 日の 2 年間に 1 ヶ月に 1 回、全 24 回の調査を行った。

3.2 海水サンプル採集と環境データの収集

夙川河口の表層水は、海岸から手を伸ばして 3,000 ml ジョッキを用いて採水し、2.0 mm メッシュサイズのふるいで葉などの大きなゴミを取り除いた後に、1,000 ml ボトルに回収した [2011 年 2 月 16 日 (サンプル番号: 384) からはふるいを使用したが、それ以前はオートクレーブ滅菌した四つ折りガーゼで濾過して大きな浮遊物を取り除いた]。六甲アイランドでは、岸壁からロープつきバケツを用いて採水し、1,000 ml ボトルに回収した。大阪湾では、表層水は Sta. 8 (8S) と Sta. 15 (15S) の両地点とも船上からバケツ採水を行った。底層水は Sta. 8 (8B) では現場で測定した水深から 2 m 引いた採水深度からナンセン採水器 (メッセンジャーを投下して器具を転倒させ、通水孔を閉じる構造になっている転倒採水器) を用いて採水した。Sta. 15 (15B) では、現場で測定した水深から 1 m 引いた採水深度から北原式採水器 (メッセンジャーを投下して掛け金を外すことにより、蓋と採水筒が中心の軸に沿って降下して閉じることにより採水する) を用いて採水を行った。採水したサンプルはすべて 1,000 ml ボトルに回収した。

すべてのサンプリングサイトでは、メッシュサイズ 20 μm のサンプリングネット (Cat. No. 5512, Rigo Co., Ltd., 埼玉) でネットサンプルを採集し、サンプリングを行ったその日のうちに、主なプランクトン組成を倒立顕微鏡 (CK30 または CK40, Olympus, 東京) で観察を行った。水温、塩分、クロロフィル蛍光強度、濁度は compact-CTD (JFE Advantech Co., Ltd., 兵庫) を用いて、表層から海底まで垂直方向に 10 cm ごとに測定を行った。夙川河口と六甲アイランドのクロロフィル *a* 濃度 (Chl *a*) は、Sta. 15 において compact-CTD で測定した、ウラニンを基準としたクロロフィル蛍光強度 (x , ppb) と、アセトン抽出によって分析したクロロフィル *a* 濃度 (y , $\mu\text{g l}^{-1}$) の回帰直線の式 ($y = 1.5109x$) を用いて、換算を行った (図 5)。大阪湾における、CTD データ、クロロフィル *a* 濃度のデータは大阪府立環境農林水産総合研究所から提供して頂いた。

3.3 松花粉 MPN 法によるヤブレッツボカビ類の細胞密度の推定

海水中のヤブレッツボカビ類の細胞密度は、MPN 法と松花粉釣り上げ法を組み合わせた松花粉 MPN 法を用いて推定した (Gaertner 1968)。輸送の間にヤブレッツボカビ類が遊走細胞を放出して細胞密度が増加することを防ぐために、サンプリング後できる限り早く希釈処理を行った。夙川河口では 2011 年 2 月 16 日 (サンプル番号: 384) からはサンプリング後すぐに現地で処理を行い、それ以前は、サンプリングから 1~2 時間後に研究室で処理を行った。六甲アイランド南岸のサンプルはすべて、サンプリングから 1~2 時間後に研究室で処理を行った。大阪湾のサンプルはできる限りサンプリング後すぐに船上で処理を行ったが、できなかった場合は上陸後すぐに処理を行った。

本研究の松花粉 MPN 法では、海水 10 ml を原液とし、そこから 1 ml を 9 ml のオートクレーブ滅菌した自然海水で 10 倍希釈することを繰り返すことによって、原液、 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} の 6 段階濃度の希釈液を $n=3$ で 15 ml 容スクリーキャップのポリプロピレン製チューブに作製した。希釈は 2.0 ml のディスポーザブルスポイトを用いた。すべてのサンプルに松花粉を水面に薄く広がる程度に添加し、15、20 または 25°C のいずれかサンプリング時に近い温度で 1 週間培養した。松花粉は毎年 4 月下旬ごろに夙川河口の海岸沿いに植わっているクロマツ (*Pinus thunbergii*) から採取し、60°C で一晩乾燥させて松花粉を回収した後、95°C で 2 時間の滅菌を 1 日おいて、2 回行ったものを使用した。1 週間培養後、水面に浮かんだ松花粉を d-GPY 寒天培地 [0.2% グルコース、0.1% ポリペプトン、0.05% 乾燥酵母エキス、1.5% 寒天末を、50/50 自然海水/蒸留水に溶解、抗生物質は 0.02% クロラムフェニコール (2009 年 12 月 2 日分まで)、または 0.01% ストレプトマイシン硫酸塩と 0.01% アンピシリンナトリウム塩 (2009 年 12 月 28 日以降分)、表 3] に 1 サンプルにつき、2 枚ずつ塗り広げた。ヤブレッツボカビ類は松花粉が存在すると細胞分裂を行い、遊走細胞を放出し、松花粉に向かって泳ぎ着生する性質がある。この性質を利用してヤブレッツボカビ類を釣り上げた。ヤブレッツボカビ類はコロニーを形成するため、顕微鏡下でヤブレッツボカビ類の有無を容易に確認することができる。松花粉を寒天培地にまいてから、1 週間のうちに 2~3 回、倒立顕微鏡 (CK30 または CK40, Olympus, 東京) でヤブレッツボカビ類のコロニーの有無を観察した。コロニーが検出できたサンプルの数から、ヤブレッツボカビ類の細胞密度をコンピュータープログラム「mpn.exe」(Klee 1993) を用いて確率的に推定した (図 6)。

背景で前述したように、松花粉 MPN 法はアクリフラビン直接計数法よりも過小評価になる可

能性が高いことが知られている。しかしながら本研究では、株の確立、同定ができることと、誤同定や、死細胞を計数してしまうことによって過大評価になってしまうことを避けるために、松花粉 MPN 法で細胞密度を推定することを選択した。

なお、夙川河口における 2008 年のヤブレッツボカビ類の細胞密度の計数は、著者と甲南大学 理工学部 生物学科 2008 年度卒の野村友佳氏と、同卒の角江智弘氏の 3 人で行った。

3.4 ヤブレッツボカビ類の分離と同定

松花粉 MPN 法の過程で寒天培地上に出現したヤブレッツボカビ類のシングルコロニーを分離して株を確立した。倒立顕微鏡下でガラスキャピラリーを用いて、寒天培地から抗生物質入りの d-GPY 液体培地を入れた 24-well プレートに分離した。1 サンプルにつき、最大 24 コロニーを分離した。サンプリング時の温度に応じて、15、20 または 25°C で約 5 日間培養を行った後、ランダムに約 10 株を選択し、試験管に植え継ぎを行うことによって株を確立した。

確立した株から約 5 株をランダムに選択し、18S rRNA 遺伝子配列のシーケンス解析を行い、系統解析することによって系統群の同定を行った。総 DNA は Murray & Thompson (1980) に記載されている CTAB 法を改良した方法によって抽出を行った。d-GPY 培地で 7 日間程度培養した株を 3000 rpm、5 分間の遠心分離により、1.5 ml エッペンチューブにペレットとして回収した。そのペレットを TE バッファー 567 μ l に溶解した後、10% ドデシル硫酸ナトリウム (sodium dodecyl sulfate, SDS) 30 μ l と 20 mg ml⁻¹ プロテイナーゼ K (proteinase K) 3 μ l を加えた後、37°C、60 分間のインキュベートを行った。抽出された DNA は多糖類 (polysaccharide) を除去するため、5M NaCl 100 μ l と CTAB-NaCl [10% (w/v) CTAB, 14% (v/v) 5M NaCl, MilliQ 水溶解] 80 μ l を加え、65°C、10 分間インキュベートを行った。その後、サンプルと等量のクロロホルム-イソアミルアルコール (24:1, v/v) による DNA の精製を 2 回行い、サンプルの 1/10 量の 0.3M 酢酸ナトリウムと等量のイソプロパノールで DNA の沈殿作業を行った。DNA ペレットを 70% エタノール (-20°C) で 2 回洗浄し、最終的に TE バッファー 50 μ l に溶解し、-20°C で保管した。

Polymerase chain reaction (PCR) によって、抽出した DNA の 18S rRNA 遺伝子のほぼ全長の増幅を行った (約 1800 bp)。DNA ポリメラーゼは、TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (タカラバイオ, 滋賀, 大津) を、プライマーは SR01 (Nakayama et al. 1996) と SR12L1 (本研究 5'-CCTTGTTACGACTTCACCTTCC-3') を使用した。PCR 産物は illustra ExoProStar (GE Healthcare,

Amersham Place, Little Chalfont, England) を用いて精製した。SR01 または SR05 (Nakayama et al. 1996) のプライマーを用いて、シーケンス解析を行うことによって、18S rRNA 遺伝子の前半約 600 bp を決定した。この領域は比較的高いバリエーションがあり、十分な解像度で系統解析を行うことができる。配列の決定は、北海道システムサイエンスに依頼し、Applied Biosystems PRISM 3130 Genetic Analyzer または PRISM 3730 DNA Analyzer または 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, Foster City CA, USA) を用いて行われた。

決定した配列は、TreeBASE (<http://treebase.org/>) に登録されている matrix accession number : M3464 (Yokoyama et al. 2007) のラビリンチュラ類の 18S rRNA 遺伝子配列のアラインメント済みファイルをベースにして、ClustalX 2.1 (Larkin et al. 2007) で profile alignment を行った後に、自身の目で確認し、明らかにアラインメントがずれているものは手作業で修正を行った。系統樹は Tamura-Nei model (Tamura & Nei 1993) で距離計算を行い、近隣結合 (NJ, neighbor-joining) 法 (Saitou & Nei 1987) で MEGA 5.2.2 (Tamura et al. 2011, <http://www.megasoftware.net/>) を用いて系統樹を作製した。ギャップの処理は、pairwise deletion を用いた。ブートストラップ値は 1000 回の再抽出を行った。本論文の図表では系統群の名称は省略形を用いた (図 7)。ただし、六甲アイランドのサンプルに関しては、ラビリンチュラ類の分離を行ったものの同定は行わなかった。

また、各系統群から 1~3 株を選択し (1 系統群は 4 株, 1 系統群は 5 株), 18S rRNA 遺伝子配列のほぼ全長を決定した (約 1,600 bp)。配列の決定には、SR01, SR05, SR06, SR09, SR12 (Nakayama et al. 1996) を用い、必要に応じて Labyseq (本研究 5'-ATCCAAGGAAGGCAGCAGGC-3') も用いた。これらの配列は GenBank に accession numbers: AB973502~AB973563 (表 4) で登録し、図 8 の系統樹に太字で示した (表 5)。

なお、夙川河口における 2008 年のヤブレッツボカビ類の分離と、分子系統樹解析による同定は、甲南大学 理工学部 生物学科 2008 年度卒の野村友佳氏によって行われた。

3.5 浮遊性細菌の細胞密度の計数

採水後すぐに、現地で 25% グルタルアルデヒド (ナカライテスク, 京都) で最終濃度 2.5% になるように固定し、研究室に持ち帰り後、4°C で保管した。固定した海水サンプル 0.5 ml または 1.0 ml に、最終濃度が $1 \mu\text{g ml}^{-1}$ になるように $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ DAPI (100 mM HEPES 溶解, 同仁化学研究所, 熊本) を加え、15~30 分間、室温放置し染色した。サンプルを孔径 $0.22 \mu\text{m}$, 直径 25

mm の茶色のポリカーボネートフィルター (Isopore™ Membrane Filter, Merck Millipore, Massachusetts, USA) で濾過し、フィルター上に細菌細胞を回収した。その後、オートクレーブ滅菌の後、孔径 0.2 μm のフィルターで滅菌を行った自然海水 1 ml でフィルターを 2 回洗浄し、フィルターを風乾させた。フィルターを 1/4 に切り、イマージョンオイルでカバーガラスに封入した。ノマルスキー蛍光顕微鏡の UV 蛍光下で、50 μm \times 50 μm の区画を 50 ヶ所計数し、平均値から海水 1,000 ml あたりの浮遊性細菌の細胞密度を推定した。

なお、夙川河口の 2009, 2010 年分の浮遊性細菌の細胞密度の計数は、甲南大学大学院 自然科学研究科 生命・機能科学専攻 系統分類学研究室 博士後期課程 2 年の土井耕作氏によって行われた。

3.6 夙川河口における、POC, PON, DOC の測定

採水後できる限り早く、100 ml の海水を 450°C 2 時間、加熱処理した直径 25 mm のガラスファイバー製のワットマン GF/F フィルター (GE Healthcare, Amersham Place, Little Chalfont, UK) で濾過した。フィルター上に回収した、懸濁態有機炭素 (POC) と、懸濁態有機窒素 (particulate organic nitrogen, PON) は、フィルターを 60°C, オーバーナイトで乾燥させた後、分析までデシケーターで保管した。一方、フィルターを通過した、溶存態有機炭素 (DOC) は 50 ml ファルコンチューブ 2 本に入れ、分析まで -20°C で保管した。POC, PON は 2010 年 12 月 7 日～2013 年 9 月 19 日 (n=37) のサンプルをア・ラビット・サイエンス (神奈川) に分析を依頼した。分析機器は CHN analyzer (Model MT-5, Yanaco Co. Ltd, 京都) を使用した。DOC は 2012 年 4 月 4 日～2013 年 9 月 19 日 (n=19) のサンプルを一般財団法人化学物質評価研究機構 (東京) に分析を依頼した。分析機器は total organic carbon analyzer (TOC-VCSH, Shimadzu Co. Ltd, 京都) を使用した。

4. 結果

4. 結果

4.1 夙川河口の結果

4.1.1 夙川河口におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度

夙川河口では、約6年間で計100回のサンプリング調査を行った。ヤブレッツボカビ類はすべての調査日で確認され、細胞密度は40 cells Γ^{-1} (2009年12月28日) から266,400 cells Γ^{-1} (2008年5月1日, 2013年8月19日) の間で変動しており、夏に多く、冬に少ない傾向がみられた (図9)。少なくとも1回ないし2回の細胞密度の急激な増減が起こるピークが2008, 2010, 2012, 2013年の春から夏にかけて観測された。ピーク時の細胞密度は、2008年5月1日に266,400 cells Γ^{-1} , 7月24日に47,470 cells Γ^{-1} , 2010年5月6日に103,600 cells Γ^{-1} , 8月17日に103,600 cells Γ^{-1} , 2012年6月6日に47,470 cells Γ^{-1} , 7月1日に103,600 cells Γ^{-1} , 2013年8月19日に266,400 cells Γ^{-1} を観測した。一方、2009, 2011年はピークを観測しなかった。ピーク時を除いた細胞密度の最大は26,640 cells Γ^{-1} であり、平均は4,670 cells Γ^{-1} であった (表6, 7)。

4.1.2 夙川河口における浮遊性細菌の細胞密度

夙川河口における浮遊性細菌の細胞密度は、 2.86×10^8 cells Γ^{-1} (2011年12月7日) から 1.08×10^{10} cells Γ^{-1} (2009年6月4日) の間で変動しており、平均細胞密度は 2.03×10^9 cells Γ^{-1} (n=98) であった (表6, 7)。浮遊性細菌の細胞密度は、河川水の影響を受けている夙川河口と同様の環境である、高知県の四万十川河口で調査された報告とほぼ同等の値であった ($1.34 \pm 0.10 \times 10^9$, Kimura & Naganuma 2001)。

4.1.3 夙川河口の環境データ

夙川河口の水温は、6.3°C (2010年1月19日) から30.9°C (2013年8月19日) の間で変動しており、平均は19.3°Cであった。塩分は、3.9 PSU (2010年7月15日) から31.6 PSU (2008年

9月4日)の間で変動しており,平均は22.9 PSUであった。調査地点が河口域であるため,少しの降雨でも河川水の出水の影響を受け,塩分が大幅に変動していた。クロロフィル *a* 濃度は,調査期間中 *Heterosigma akashiwo* のブルーム (大量増殖) が発生したときに, 139.8 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2008年5月27日) と 202.5 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2009年6月4日) と2回顕著な高い値を観測した。これらのブルーム以外では, 1.28 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2010年5月13日) から 49.9 $\mu\text{g l}^{-1}$ (2013年7月3日) の間で変動しており, 平均クロロフィル *a* 濃度は 10.4 $\mu\text{g l}^{-1}$ であった (表6, 7)。

4.1.4 夙川河口におけるヤブレツボカビ類の構成系統群の組成

夙川河口の海水からは, 932 株のヤブレツボカビ類を確立し, そのうち 435 株の 18S rRNA 遺伝子の部分配列を決定した (表7)。これらの配列を加えたラビリンチュラ類の NJ 系統樹の作製によって, 分離株の系統群の同定を行った。その結果, 夙川河口からは少なくとも 24 系統群の存在が明らかになった (表4, 図8)。そのうち 3 系統群は, 18S rRNA 遺伝子配列による分子系統解析で同じ系統群に位置してくる株や環境 DNA の配列は報告されているが, 同定された種が存在していない, 未同定の系統群であり (Huang et al. 2003, Tsui et al. 2009, Collado-Mercado et al. 2010, Yang et al. 2010, Li et al. 2013, Nakazawa et al. 2014), 4 系統群は本研究で新たに認識された新規な系統群であった。そこで, これらの系統群を便宜的に, unidentified thraustochytrid 1, 2a, 2b, 3a, 4, 6, 7 と名付けた。また, *Oblongichytrium* 系統群は系統樹上で 5 系統群に分かれた。それらを区別するため, *Oblongichytrium* sp. 1, 2, 3, 4, 5 と便宜的に呼称した (図8)。比較的高頻度に出現した系統群を主要系統群とした。夙川河口では unidentified thraustochytrid 1, unidentified thraustochytrid 2a, unidentified thraustochytrid 2b, *Schizochytrium* sp., *Oblongichytrium* sp. 1, *Oblongichytrium* sp. 2, *Oblongichytrium* sp. 3 の7つの主要系統群の存在が明らかになった (図9, 10, 11)。これらの主要系統群は, unidentified thraustochytrid 1 が3月から5月, unidentified thraustochytrid 2a が5月から6月, *Schizochytrium* sp. が6月から12月, unidentified thraustochytrid 2b が7月から9月, *Oblongichytrium* sp. 1 および 2 が10月から7月, *Oblongichytrium* sp. 3 が12月から4月に出現する傾向が観測された (図9)。このような系統群の季節変動が, 毎年同様に繰り返されていた (図10)。

一方, ヤブレツボカビ類の細胞密度のピーク時における構成系統群は, それぞれ全く違っていた。2008年5月1日のピーク時には, 3株の *Aurantiochytrium* sp. 2, 1株の *Thraustochytrium* aff.

striatum, 1 株の unidentified thraustochytrid 1 が分離された。7 月 24 日の 2 回目のピーク時には、7 株の *Aurantiochytrium* sp. 2 が分離された。2010 年 5 月 6 日の 1 回目のピーク時には、6 株の unidentified thraustochytrid 2a, 4 株の *Oblongichytrium* sp. 1, 8 月 17 日の 2 回目のピーク時には、3 株の unidentified thraustochytrid 2b, 3 株の *Botryochytrium* sp., 2 株の *Schizochytrium* sp. が分離された。2012 年 6 月 6 日のピーク時には、2 株の *Oblongichytrium* sp. 2, 2 株の unidentified thraustochytrid 7, 1 株の *Oblongichytrium* sp. 1, 7 月 1 日は 2 株の *Sicyoidochytrium* sp., 2 株の unidentified thraustochytrid 7, 1 株の *Oblongichytrium* sp. 1 が分離された。2013 年 8 月 19 日のピーク時には、3 株の unidentified thraustochytrid 2b, 1 株の *Schizochytrium* sp., 1 株の *Thraustochytrium* aff. *caudivorum* が分離された (表 7)。ただし、分離に用いた抗生物質は、2009 年 12 月 2 日分までは、0.02% クロラムフェニコールを使用していたが、いくつかの系統群で生育を阻害することが明らかになったため、2009 年 12 月 28 日以降の調査では、生育の阻害を受けにくい 0.01% ストレプトマイシン硫酸塩と 0.01% アンピシリンナトリウム塩に変更した。使用した抗生物質を変更したことが、分離された株の系統群に影響している可能性があることは考慮しておかなければならない。

4.1.5 夙川河口におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度と環境要因の相関関係

夙川河口で調査した、ヤブレッツボカビ類の細胞密度、浮遊性細菌の細胞密度、水温、塩分、クロロフィル *a* 濃度、POC, PON, DOC のそれぞれの間での相関分析を行った。分析を行うにあたって、ヤブレッツボカビ類の細胞密度ピーク時のデータは省いた。その結果、ヤブレッツボカビ類の細胞密度は POC と DOC と特に高い相関がみられた。一方、クロロフィル *a* 濃度とは相関がなかった (表 8, 図 12)。この結果は、河口に生息するヤブレッツボカビ類の多くは、植物プランクトン以外の由来による POC や DOC を消費している可能性が推測された。ヤブレッツボカビ類のピーク時を除いた POC と DOC の平均値は、それぞれ 2.07 mg l^{-1} と 3.36 mg l^{-1} であった (表 7)。植物プランクトン由来の POC の割合を Kimura ら (2001) の方法に則って、POC とクロロフィル *a* 濃度の回帰直線から計算を行った。最小モデル ($y = ax + b$) の場合、 $y = 0.099x + 1.232$ となり (x : Chl *a*, y : POC), クロロフィル *a* 濃度が 0 の時の切片の値である 1.232 mg l^{-1} は植物プランクトン以外の由来による POC 量を示している。POC をすべて植物プランクトン由来だと仮定し、 y 切片が原点を通るような最大モデル ($y = a'x$) の場合、 $y = 0.160x$ の回帰式を得た

(図 13)。クロロフィル *a* 濃度の平均値 ($8.51 \mu\text{g l}^{-1}$) を用いて植物プランクトンの炭素量バイオマスを計算すると、最小モデルと最大モデルのそれぞれは $0.84 (0.099 \times 8.51) \text{ mg C l}^{-1}$, $1.36 (0.160 \times 8.51) \text{ mg C l}^{-1}$ と計算された。つまり、夙川河口における植物プランクトン由来の POC の割合は、POC の平均値 (2.07 mg C l^{-1}) の $40.6\sim 65.7\% [(0.84 / 2.07) \times 100, (1.36 / 2.07) \times 100]$ になることが考えられた (図 14)。ヤブレッツボカビ類 1 細胞あたりの炭素含有量, $1.65 \times 10^{-4} \mu\text{g C cell}^{-1}$ (Kimura et al. 1999) を用いて炭素量バイオマスを計算すると、ヤブレッツボカビ類のバイオマスの平均は、 $7.59 \times 10^{-4} \text{ mg l}^{-1} [(1.65 \times 10^{-4} \mu\text{g cell}^{-1}) \times 4598.24 \text{ cells (POC を測定したサンプルと同じ期間のピーク時を除いたヤブレッツボカビ類の細胞密度の平均値)}]$ と推定され、総 POC の $0.037\% [(7.59 \times 10^{-4}) / 2.07] \times 100$ を占め、ヤブレッツボカビ類自身の POC は無視できる量であることが考えられた。同様に、細菌の 1 細胞あたりの炭素含有量, $30.2 \text{ fg C cell}^{-1}$ (Fukuda et al. 1998) を用いてバイオマスを計算すると、浮遊性細菌のバイオマスの平均は、 $0.033 \text{ mg l}^{-1} [30.2 \text{ fg cell}^{-1} \times (1.08 \times 10^9 \text{ cells}) (POC を測定したサンプルと同じ期間の、ヤブレッツボカビ類のピーク時を除いた浮遊性細菌の細胞密度の平均値)]$ となり、総 POC の $1.58\% [(0.033 / 2.07) \times 100]$ を占めたことにより、浮遊性細菌自身の POC も無視できると考えられた。マイクロ動物プランクトンとネット動物プランクトンの炭素量は $0.53\sim 28.3 \text{ mg C m}^{-3} (0.53 \times 10^{-3}\sim 28.3 \times 10^{-3} \text{ mg C l}^{-1})$ と $13.2\sim 35.5 \text{ mg C m}^{-3} (13.2 \times 10^{-3}\sim 35.5 \times 10^{-3} \text{ mg C l}^{-1})$ という報告から $0.03\sim 1.4\% [(0.53 \times 10^{-3}) / 2.07] \times 100, [(28.3 \times 10^{-3}) / 2.07] \times 100$ と $0.6\sim 1.7\% [(13.2 \times 10^{-3}) / 2.07] \times 100, [(35.5 \times 10^{-3}) / 2.07] \times 100$ となり、これらも無視できることが考えられた (Uye et al. 1996, Uye & Shimazu 1997)。以上のことより、夙川河口における、植物プランクトン以外の由来による POC は総 POC の約 $35\sim 60\%$ 存在していることが推定された (図 15)。

4.2 六甲アイランド南岸の結果

4.2.1 六甲アイランド南岸におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度

六甲アイランド南岸では、約3年間、計63回のサンプリング調査を行った(表9)。細胞密度は0 cells Γ^{-1} から10,360 cells Γ^{-1} (2008年7月10日, 8月6日)の間で変動していた(図16)。細胞密度の平均は1,061 cells Γ^{-1} であった(表6)。夙川河口に比べ細胞数は少ないが、他の日にくらべ細胞密度が急激に増減するピークを毎年春から夏にかけて複数回観測した。ピークは、2008年4月16日に4,747 cells Γ^{-1} , 7月10日に10,360 cells Γ^{-1} , 8月6日に10,360 cells Γ^{-1} , 2009年5月2日に4,747 cells Γ^{-1} , 8月14日に1,632 cells Γ^{-1} , 2010年6月3日に4,747 cells Γ^{-1} , 7月15日に4,253 cells Γ^{-1} , 7月29日に4,747 cells Γ^{-1} , 8月17日に4,747 cells Γ^{-1} を観測した。

4.2.2 六甲アイランド南岸の環境データ

水温は、8.0°C (2010年1月19日) から29.7°C (2010年8月17日)の間で変動しており、平均は19.3°Cであった。塩分は、8.8 PSU (2010年6月17日) から31.5 PSU (2009年9月10日)の間で変動しており、平均は25.5 PSUであった。調査地点は河口域ではないが、海岸線沿いであるので比較的降雨の影響を受けやすいため、塩分の変動幅は夙川河口ほど大きくなかったが、大阪湾に比べると大きかった。クロロフィル*a*濃度は1.03 $\mu\text{g } \Gamma^{-1}$ (2009年9月30日) から40.39 $\mu\text{g } \Gamma^{-1}$ (2008年6月26日)の間で変動しており、平均クロロフィル*a*濃度は9.24 $\mu\text{g } \Gamma^{-1}$ であった(図16, 表6, 9)。

4.3 大阪湾の結果

4.3.1 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度

大阪湾では、2年間、計24回のサンプリング調査を行った。ヤブレッツボカビ類の細胞密度は、8Sでは0 cells Γ^{-1} から474.7 cells Γ^{-1} の間で変動し(平均122.09 cells Γ^{-1})、8Bでは0 cells Γ^{-1} から474.7 cells Γ^{-1} の間で変動し(平均46.91 cells Γ^{-1})、15Sでは0 cells Γ^{-1} から4,747 cells Γ^{-1} の間で変動し(平均508.92 cells Γ^{-1})、15Bでは0 cells Γ^{-1} から266.4 cells Γ^{-1} の間で変動(平均45.02 cells Γ^{-1})していた(図17, 表6, 10)。本研究の大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の細胞密度は、過去に様々な海域で松花粉MPN法(Gaertner 1968)を用いて調査された結果と、同程度の細胞密度であった(表1)。大阪湾では15Sのみ、毎年夏に1回小さな細胞密度のピークを観測し、ピーク時の細胞密度は、2011年が4,747 cells Γ^{-1} (2011年8月1日)、2012年が2,664 cells Γ^{-1} (2012年9月3日)であった。しかしながらピーク時の細胞密度は、夙川河口や六甲アイランド南岸よりも小さな値であった。

4.3.2 大阪湾における浮遊性細菌の細胞密度

大阪湾における浮遊性細菌の細胞密度は、どの地点においても $0.50\sim 31.4 \times 10^8$ cells Γ^{-1} 程度で変動しており、平均の細胞密度は、8Sで 4.96×10^8 cells Γ^{-1} 、8Bで 4.05×10^8 cells Γ^{-1} 、15Sで 9.64×10^8 cells Γ^{-1} 、15Bで 4.64×10^8 cells Γ^{-1} であった。これらの浮遊性細菌の細胞密度は、過去に瀬戸内海で調査された報告とほぼ同等の値であった($5.50 \pm 2.06 \times 10^8$ cells Γ^{-1} , Naganuma et al. 1998)(図17, 表6, 10)。

4.3.3 大阪湾の環境データ

大阪湾の水温は $8.0\sim 29.0^\circ\text{C}$ で変動しており、平均は $17\sim 18^\circ\text{C}$ であった。15Sの塩分は降雨の影響を受け、 $20.4\sim 30.8$ PSUの間で変動していた。一方、8Sの塩分は台風通過時に激しい降雨があったときのみ22.2 PSUを観測したが、それ以外では $29.6\sim 32.4$ PSUの間で変動していた。

8B と 15B の塩分は常に 32 PSU 前後であった。クロロフィル *a* 濃度は 15S のみ大きな変動が観測され、 $0 \mu\text{g l}^{-1}$ (2011 年 7 月 5 日) から $61.1 \mu\text{g l}^{-1}$ (2011 年 8 月 1 日) の間で変動していた (図 17, 表 6, 10)。8S のヤブレッツボカビ類の細胞密度は水温と、15S のヤブレッツボカビ類の細胞密度は浮遊性細菌の細胞密度と、弱い相関が見られた (表 11, 12)。しかしながら、8S, 15S のどちらにおいても、ヤブレッツボカビ類の細胞密度はクロロフィル *a* 濃度とは相関がなかった。

4.3.4 大阪湾におけるヤブレッツボカビ類の構成系統群の組成

大阪湾 8S では 71 株のヤブレッツボカビ類が分離され、46 株を 18S rRNA 遺伝子配列の決定によって同定した。8B では 56 株を分離し、37 株を同定した。15S では 113 株を分離し、71 株を同定した。15B では 20 株を分離し、16 株を同定した (表 10)。分子系統学的な解析によって少なくとも大阪湾からは、4 つの未同定系統群と 4 つの新規系統群を含む 16 系統群が存在していることが明らかになった (表 4, 図 8)。未同定または新規系統群は、unidentified thraustochytrid 2a, 2b, 3b, 3c, 4, 5, 6, 7 と便宜的に名付けた。8S と 15S では、類似した系統群組成であり、主要系統群は unidentified thraustochytrid 3b, *Aplanochytrium* sp., *Oblongichytrium* sp. 2 の 3 系統群であった (図 11, 17, 18)。*Aplanochytrium* sp. が 7 月から 11 月、unidentified thraustochytrid 3b が 4 月から 7 月と 11 月から 1 月に出現し、季節変動していることが観察された。しかし、*Oblongichytrium* sp. 2 は決まった時期に出現しているようではなかった (図 18)。一方、8B と 15B も系統群組成が似ており、*Oblongichytrium* sp. 2 と *Aplanochytrium* sp. が主要系統群であった。底層の海水からは分離できた株数が少なかったため、8B, 15B での構成系統群の季節変動は把握することができなかった。15S の 2011 年の細胞密度のピーク時は、配列決定した 5 株すべてが unidentified thraustochytrid 2 であり、2012 年のピークは 2 株が *Aplanochytrium* sp., 1 株が *Thraustochytrium* aff. *caudivorum* が分離された (表 10)。

5. 考察

5. 考察

5.1 ヤブレッツボカビ類の細胞密度ピーク：ヤブレッツボカビ・スパイク

5.1.1 ヤブレッツボカビ・スパイクの発生

本研究による、ヤブレッツボカビ類の細胞密度の継続的なモニタリングによって、夙川河口では約1年おきに、六甲アイランド南岸と大阪湾では毎年、1～数回の顕著な細胞密度の増減（ピーク）が起こることが明らかになった。夙川河口のピーク時の細胞密度は47,470～266,400 cells l⁻¹であった。細胞密度は少ないが同様のピークが六甲アイランド南岸（最大細胞密度 10,360 cells l⁻¹）や大阪湾 15S（最大細胞密度 4,747 cells l⁻¹）といった、河川水の影響を受けている定点で観測された。これらのピークは夙川河口、六甲アイランド南岸と大阪湾 15S で同時期に観測されておらず、構成系統群もピークごとに異なっていることから、これらのピークはそれぞれ独立の現象であることが考えられた。さらに、2006～2007年に三重県英虞湾の人工干潟（34° 18.10' N, 136° 51.12' E）の汽水域環境で予備的な調査を行ったところ、その場所でも春から夏にかけて顕著な細胞密度のピークが観察された（本多 未発表）。ヤブレッツボカビ類の細胞密度のピークはおそらく、河川水の影響を受ける汽水域や沿岸域では、一般的な現象であることが示唆され、この現象を「ヤブレッツボカビ・スパイク (thraustochytrid spikes)」と名付けた。

5.1.2 ヤブレッツボカビ・スパイク発生の原因

ヤブレッツボカビ・スパイクの発生期間と発生頻度の確認のため、夙川河口において2010年4月から5月にかけては毎週調査を行ったところ、2週続けてスパイクが発生することはなかったことから、スパイクは短期間に起こる細胞密度の増減であり、かつ、短い間隔では発生しない現象であることが分かった。ヤブレッツボカビ類の細胞密度の急激な増加の原因を明らかにするために、まず、ヤブレッツボカビ類の細胞密度とクロロフィル *a* 濃度が顕著に高かった時の植物プランクトン組成との関連性について検討した。夙川河口において、クロロフィル *a* 濃度が高かった時には、以下のような植物プランクトンが多く生息していることを観察した。2008年4月24日には *Skeletonema* spp., 5月28日には *Heterosigma akashiwo*, 7月10日には *Heterosigma*

akashiwo, *Euglena* spp., 7月24日には *Ceratium* spp., *Gymnodinium* spp., 10月9日には *Prorocentrum* spp., *Thalassiosira* spp., *Pseudo-nitzschia* spp., 2009年6月4日には *Heterosigma akashiwo*, 2010年7月1日には *Skeletonema* spp., *Chaetoceros* spp., 2013年7月3日には *Prorocentrum* spp. のブルームを観察した。しかしながら、スパイクとこれらのブルームが同日に観測されることはほとんどなかった。六甲アイランド南岸において、クロロフィル *a* 濃度が高かった時には、以下のような植物プランクトンが多く生息していることを観察した。2008年4月24日には *Skeletonema* spp., 6月26日には *Skeletonema* spp., *Pseudo-nitzschia* spp., 2010年11月2日には *Coscinodiscus* spp., 大阪湾 15S では、2011年3月7日には *Thalassiosira* spp, 2011年6月6日には *Skeletonema* spp., 2011年8月1日には *Skeletonema* spp., 2012年3月6日には *Heterocapsa* spp., *Skeletonema* spp. のブルームを観察した。しかしながら六甲アイランド南岸でも夙川河口と同様に、スパイクと同日にこれらのブルームが観測されることはほとんどなかった。Gaertner (1979) は、*Schizochytrium* sp.と同定されたヤブレッツボカビ類が、生きている珪藻 *Thalassionema* に寄生し、珪藻の細胞質を分解する様子を示したが、本研究の結果からは、ヤブレッツボカビ類と植物プランクトンの積極的な関係性は得ることができなかった。

一方、スパイクは水温、塩分との関係が見られた。河口域ではスパイク時は塩分が低くなっていることが観測され、降雨による河川水の影響を受けていることが示唆された。そのため、ヤブレッツボカビ類は川から供給された陸起源有機物を栄養源として成長している可能性が考えられた (図 15)。これは、Kimura & Naganuma (2001) が、沖合よりも河川水の影響を受けている海域の方が、ヤブレッツボカビ類の細胞密度が高いことを示したことから、ヤブレッツボカビ類は陸起源有機物を栄養源としている可能性を示唆したと一致していた。海水環境の物理的な変化と陸起源有機物の供給が、ヤブレッツボカビ類の遊走細胞の放出をうながす刺激になる可能性が考えられた。また、ヤブレッツボカビ類は1つの栄養細胞から多数の遊走細胞を放出するので、栄養細胞が一斉に遊走細胞の放出を行うと、細胞数の爆発的な増加として観測される可能性がある。実際に、ヤブレッツボカビ類は培地環境の変化に伴って遊走細胞を放出することが知られている (例えば、Honda et al. 1998, Yokoyama & Honda 2007)。

さらに、河口域では、春と夏のそれぞれの季節の変わり目に、水温の急激な上昇が観測された。春と夏のスパイクは、季節の変わり目で水温がそれぞれ 20°C と 30°C を超えるタイミングと一致していた (図 19)。微細藻類は、しばしば休眠細胞 (cyst) のステージをもっており、水温上昇が休眠細胞の発芽する引き金となって、同時に迅速に繰り返し細胞分裂を行うことによってブルームを形成する (Anderson 1980, Imai 1989)。スパイクはヤブレッツボカビ類の休眠細胞

が一斉に発芽することが原因の可能性も考えられたが、ヤブレッツボカビ類の休眠細胞ステージの存在や、水温によって細胞が活性化するという報告はまだなされていない。

5.1.3 ヤブレッツボカビ・スパイク終息の原因

一方、ヤブレッツボカビ類の細胞密度が急激に減少することの原因の1つとして、ウイルス感染の可能性が考えられた。ウイルスは種特異性が高く、ある種が増殖するとその種を特異的に減少させる (Schroeder et al. 2002, Nagasaki et al. 2004)。いくつかの微細藻類のブルームはウイルス感染が原因で突然終息することが知られている (Nagasaki et al. 1994, Tomaru et al. 2004, Tomaru et al. 2008a)。ヤブレッツボカビ類に感染するウイルスは、*Aurantiochytrium* sp. に感染する1本鎖RNAウイルスと、*Sicyoidochytrium* sp.に感染する2本鎖DNAウイルスの2種類が分離されており (Takao et al. 2005, 2006, 2007)、どちらのウイルスも感染すると宿主の細胞を破壊する。また、微細藻類の大きなスケールのブルームは、1年おきにしか形成しないことが報告されており、微細藻類のブルームが発生した後に、それに感染した大量のウイルス粒子が海底に散布されることが観察されているため、次の年に増えることができないのではないかと考えられている (Tomaru et al. 2007)。このことを考慮すると、河口域でヤブレッツボカビ・スパイクが1年おきにしか起こらなかった原因について、ウイルス感染によって説明できる可能性が考えられた。ただし、本研究でスパイク発生時に出現したほとんどの系統群について、それらに感染するウイルスは発見されていない。一方、六甲アイランド南岸と大阪湾のスパイクは規模が小さかったため、次の年に増殖できないほどのウイルス粒子が海底に撒かれることはなかったことから、毎年スパイクが起こった可能性も考えられた。

5.1.4 ヤブレッツボカビ・スパイクが発生する仮説

ヤブレッツボカビ類の細胞密度と、様々な環境要因との関係を考えることによって、ヤブレッツボカビ・スパイクが発生する仮説を立てた。ヤブレッツボカビ類は水温の低い冬の間は活発に増殖することができなかったが、春になり急激な水温上昇と降雨による塩分低下が引き金になって活発化することが考えられた。そのようにして増殖したヤブレッツボカビ類は、冬の間分解

されずに河口域に堆積した落ち葉などの陸起源有機物を分解し、爆発的に増殖することによって、春のスパイクが起こることを予想した。その後、6月の梅雨によって塩分が低下し、再び河口域に陸起源有機物が供給されるとともに、夏の30°Cを超える水温上昇により、さらに増殖することによって夏のスパイクが発生することを予想した(図20)。また、春には海岸沿いに植わっている松からの花粉の飛散もヤブレッツボカビ類の増殖に関係している可能性も考えられた。寒帯に位置する貧栄養な湖では、針葉樹の花粉が湖の生産を助けているという報告がある(Graham et al. 2006)。実際に現場で何が起こっているのか明らかにするためには、ヤブレッツボカビ類の系統群ごとの温度や塩分の増殖特性や、想定されるヤブレッツボカビ類の栄養源や、被食者との掛け合わせ実験などが必要だろう。

5.2 ヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマス

5.2.1 場所によるヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの違いとその理由

本研究の結果、夙川河口でのヤブレッツボカビ・スパイク時を除いた細胞密度の平均は、4,670 cells Γ^{-1} (n=93) であり、六甲アイランド南岸での細胞密度の平均は 1,061 cells Γ^{-1} 、大阪湾の表層水の細胞密度の平均は、508.9 cells Γ^{-1} (Sta. 15S) と 122.1 cells Γ^{-1} (Sta. 8S)であった (表 6)。河川水の影響が少なくなっていくにつれて、ヤブレッツボカビ類の細胞密度も少なくなっていることが明らかになった。松花粉 MPN 法を用いた水柱でのヤブレッツボカビ類の細胞密度を計数した過去の調査では、5~1000 cells Γ^{-1} の範囲の細胞密度が世界中でよく観測された (表 1)。例えば、インド洋に面した河口では平均 68 および 173 cells Γ^{-1} (Raghukumar et al. 1990) の報告があり、地中海沿岸では $1.3 \pm 1 \times 10^2$ cells Γ^{-1} (Bongiorni & Dini 2002) の報告がある。これらの報告と比較すると、夙川河口に生息するヤブレッツボカビ類は明らかに多かった。Kimura & Naganuma (2001) は、河川水の影響を受ける場所の方がヤブレッツボカビ類の細胞密度が高いことを考察しており、本研究の結果は彼らの考察と一致していた。また本研究の結果では、河口域での細胞密度は湾域に比べ 10 倍以上高かった。しかしながら、本研究での河口域の総有機炭素量 (total organic carbon, TOC) の平均は 5.43 mg C Γ^{-1} (POC平均: 2.07 mg C Γ^{-1} , DOC平均: 3.36 mg C Γ^{-1}) であり、大阪湾とその周辺の沿岸域で報告された 2.72 mg C Γ^{-1} (Kimura et al. 2001) と比べると、2 倍程度しか変わらなかった。河口域環境でのヤブレッツボカビ類の高い細胞密度の原因は有機物の量だけでなく、栄養源として分解する基質の質であることが考えられた。特に、落ち葉やデトライタスなどの陸起源有機物は絶えず河口域に供給されている。また、ヤブレッツボカビ類は落ち葉、花粉、海草や海藻などの植物性基質上に観察された報告がいくつもある (Miller & Jones 1983, Raghukumar et al. 1992, Bremer 1995, Leander et al. 2004, Wong et al. 2005) (表 2)。これらの基質に特化したり、河口域環境に適応したりした、ヤブレッツボカビ類の種が存在することが示唆された。

5.2.2 ヤブレッツボカビ類の生態系における影響力

ヤブレッツボカビ類の 1 細胞あたりの炭素量バイオマスは 1.65×10^{-4} $\mu\text{g cell}^{-1}$ 、細菌の 1 細胞あ

たりの炭素量バイオマスは $3.02 \times 10^{-8} \mu\text{g cell}^{-1}$ と推定されている (Fukuda et al. 1998, Kimura et al. 1999)。これらの数値を用いて計算された、河口域でのスパイク時を除いた場合の、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の炭素量バイオマスのそれぞれの平均値は、 $0.771 \mu\text{g C l}^{-1}$ と $58.9 \mu\text{g C l}^{-1}$ であった。それぞれのサンプリング時でのヤブレッツボカビ類の浮遊性細菌に対する炭素量バイオマスの割合の平均は 1.59% (0.04~12.19%) であった (表 7)。微生物ループとして知られているように、細菌は取り込み型の摂食栄養性の原生生物に捕食され、原生生物はさらに高次のカイアシ類のような動物プランクトンに捕食される。結果的に、細菌から原生生物を経たエネルギーは、植物プランクトンを起点とした生食連鎖に組み込まれる (Azam et al. 1983)。海洋の場合、栄養段階の低い生物からのエネルギー転送効率は 10~20% と推定されており (Ryther 1969)、10% と仮定した場合、細菌からカイアシ類のような動物プランクトンに転送されるエネルギーは 2 段階の栄養段階を経るため、1% となる。一方、ヤブレッツボカビ類の細胞サイズは 5~20 μm であり、小型の原生生物に相当する大きさである上に、しばしば培養条件下でコロニーを形成するため (Quick 1974b, Raghukumar 1988, Honda et al. 1998, Raghukumar 2002, Bongiorno et al. 2005a)、カイアシ類のような動物プランクトンが捕食できる適当な大きさ (約 5~50 μm) となる (Uye 1986, Hansen et al. 1994)。この場合、ヤブレッツボカビ類から動物プランクトンに転送されるエネルギーは栄養段階が 1 段階のみになるため、10% が移動すると考えられる (図 1)。つまり、河口域では、ヤブレッツボカビ類のバイオマスは浮遊性細菌の 1.59% だが、動物プランクトンに到達するエネルギーは浮遊性細菌の 15.9% にもなることが予想された。一方、スパイク時のバクテリアの炭素量バイオマスに対するヤブレッツボカビ類のバイオマスは、同様に計算したところ、4.64~79.57% であり、動物プランクトンに達するエネルギーはバクテリアの 0.5~8 倍にもなることが考えられた。ただし、これは単純計算であるため、ヤブレッツボカビ類とバクテリアの増殖速度の違いや、原生生物や動物プランクトン以外の濾過摂食者 (filter feeder) などの捕食者も考慮していく必要がある。さらに、松花粉を釣り餌として使用した MPN 法は、松花粉に着生せず、抗生物質が添加された寒天培地上で生育できなかったヤブレッツボカビ類は検出することができないため、推定された細胞密度は過小評価になってしまう。以上のことを考慮しても、ヤブレッツボカビ類の影響力はおそらく海洋生態系の中で無視できないと判断した。

5.2.3 ヤブレッツボカビ類が蓄積している高度不飽和脂肪酸の生態的意味

ほとんどの海産の魚は EPA や DHA などの高度不飽和脂肪酸を豊富にもっている。しかしながら、それらは短鎖の脂肪酸 (α -リノレン酸, C_{18}) から十分な量の高度不飽和脂肪酸を合成することはできないため、多くの海産の魚は EPA や DHA を必須脂肪酸としている (Bell & Tocher 2009, Tocher 2010, Meesapyodsuk & Qiu 2012)。それらの脂肪酸は動物プランクトンや植物プランクトンから、生態濃縮によって得ていると考えられている。養殖している仔稚魚に、EPA や DHA で栄養強化を行ったアルテミアを与えて育てると、高度不飽和脂肪酸源なしで育てた場合より、生存率が高くなった報告がある (Furuita et al. 1996)。ヤブレッツボカビ類は DHA を合成でき、細胞中に高濃度に蓄積しているため、生態系の中で DHA 供給源として重要な役割をしていることが考えられる。夙川河口では、毎年春から初夏にかけてたくさんの幼魚が観察されるが、この時期は、ヤブレッツボカビ・スパイクが起こる時期と同じであるため、ヤブレッツボカビ類が河口域に生息する仔稚魚や幼魚の生育を支えていることが予想された。しかしながら、このことを明確にするためには、魚類、ヤブレッツボカビ類、ワムシやカイアシ類などの動物プランクトンの食物連鎖での生態学的関係の情報を蓄積することが必要である。また、ヤブレッツボカビ類は DHA まで鎖長伸長する能力をもっているため、比較的 EPA の蓄積割合は少ない (Yokoyama & Honda 2007, Yokoyama et al. 2007)。一方、海洋に豊富に生息する珪藻は DHA をあまり蓄積しないが、EPA を多く蓄積している種が多い (Zhukova & Aizdaicher 1995, Pratoomyot et al. 2005, Gladyshev et al. 2013)。このことより、海洋生態系の EPA と DHA は、珪藻とヤブレッツボカビ類によって支えられている可能性が考えられた。さらに、海洋の魚は高度不飽和脂肪酸が必須脂肪酸であるが、淡水魚は α -リノレン酸 (C_{18} PUFA) から DHA や EPA の合成酵素をもっているため (竹内 1991)、EPA や DHA を必要としていない (Tocher 2010)。魚類が淡水に適応したときに、ヤブレッツボカビ類が淡水にあまり生息していなかったために、長鎖の高度不飽和脂肪酸を自己合成する能力も合わせて獲得した可能性が考えられた。

5.3 ヤブレッツボカビ類の構成系統群の季節変動

5.3.1 系統群ごとの出現水温、塩分の特徴

本研究の松花粉 MPN 法を用いた継続的な調査によって、ヤブレッツボカビ類の系統群は、夙川河口と大阪湾でそれぞれ異なった季節変動をしていることが明らかになった (図 10, 18)。18S rRNA 遺伝子を用いた系統解析では、分離株は 27 の独立した系統群に分かれ、その中には、5 つの未同定のヤブレッツボカビ類系統群と 5 つの新規な系統群も含まれていた (図 8)。特に、夙川河口の 1 定点の調査だけで、世界中のさまざまな海域から報告されているヤブレッツボカビ類のほとんどの系統群を検出することができた。系統群によって出現頻度の違いはあるが、どの系統群もコスモポリタンな分布域をもつことが考えられた。

夙川河口での主要系統群は、unidentified thraustochytrid 1 が春に、unidentified thraustochytrid 2a が初夏に、*Schizochytrium* sp. が夏から冬にかけて、unidentified thraustochytrid 2b が夏に、*Oblongichytrium* sp. 1 および 2 が真夏以外の季節に、*Oblongichytrium* sp. 3 が冬から春にかけて出現する傾向が観測された (図 9)。また、それらの分離時の水温と塩分は、系統群ごとに特徴があった。例えば、unidentified thraustochytrid 1, 2a, 2b はそれぞれ主に 10~15°C, 19~24°C, 24~31°C の水温から分離され、塩分は幅広い環境 (4~30 PSU) から分離されていた。*Schizochytrium* sp. の系統群は初夏から冬にかけて比較的長い期間出現しており、高温 (< 22°C) では幅広い塩分 (4~32 PSU) から、低温 (< 22°C) では高塩環境 (26~30 PSU) から分離されるといった興味深い傾向を示した。*Oblongichytrium* sp. 1 および 3 は幅広い塩分環境 (4~32 PSU) から分離され、それぞれ主に 7~23 °C, 6~14 °C の水温から分離された (図 21)。

一方、大阪湾の主要系統群は、*Aplanochytrium* sp. が夏から秋にかけて、unidentified thraustochytrid 3b が春と秋から冬にかけて出現した。この 2 系統群はともに主に高塩環境 (25~32 PSU) から分離され、それぞれ 19~30°C と 11~25°C の水温から主に分離された。(図 21)。

唯一、*Oblongichytrium* sp. 2 系統群のみ両方の海域で主要系統群となっていることが明らかになり、8~26°C の幅広い水温から分離され、塩分は 14~33 PSU と比較的高塩環境から分離された (図 21)。

以上のことから、主要系統群の組成は河口域と湾域で異なっており、ヤブレッツボカビ類の系統群はそれぞれ水温と塩分の最適環境が異なっている可能性が考えられた。また、河口域と湾域で生息している系統群が異なっていることから、湾域に生息しているヤブレッツボカビ類は河

川水に乗って運ばれてきた訳ではなく、その海域で増殖したものであることが考えられた。そのため、降雨のため川からの出水が多かった時には、夙川河口と大阪湾の両方の定点で共通した系統群が出現した。夙川河口と大阪湾 15S の両方の定点では 2011 年 3 月には *Oblongichytrium* sp. 3, 2011 年 8 月には unidentified thraustochytrid 2 が、夙川河口と大阪湾 8S では 2011 年 9 月には *Schizochytrium* sp. が共通して分離された。

5.3.2 ヤブレッツボカビ類の栄養源の推測

夙川河口では、ヤブレッツボカビ類の現存量は POC と DOC の両方と相関があり、クロロフィル *a* 濃度とは相関がないことから、河口域に生息するヤブレッツボカビ類は、栄養源としてクロロフィル *a* を持っている生きた植物プランクトン以外の由来による POC と DOC を消費していることが示唆された。前述したように、Kimura ら (2001) の方法に則ってクロロフィル *a* 濃度と POC の回帰直線から、総 POC に対する植物プランクトン由来の POC の割合を求めたところ、40.5~65.8%と推定された。この結果より、河口域では植物プランクトン以外の由来による POC は 35~60%にもなることが推定された (図 15)。植物プランクトン以外の由来による POC は、海洋由来の生物の死骸や排泄物などのデトライタスや、陸上植物の落葉などの陸起源有機物であることが予想された。一方、本研究は大阪湾での POC と DOC の測定は行わなかったため、本研究と同じ大阪湾とその周辺の海域で調査を行った Kimura ら (2001) の報告を参考にすると、ヤブレッツボカビ類は POC と相関が高く、クロロフィル *a* 濃度と DOC は相関が低かった。そのため、沿岸域でもヤブレッツボカビ類は、植物プランクトン以外の由来による POC を栄養源としていることが推測された。Kimura ら (2001) の報告でもヤブレッツボカビ類が消費している対象は、陸起源有機物やデトライタスで構成された植物プランクトン以外の由来による POC ではないかと考察されている。河口域と湾域では共に、植物プランクトン以外の由来による POC が豊富であるという結論に達したにもかかわらず、本研究では明らかに河口域と湾域でのヤブレッツボカビ類の構成系統群が異なっていた。この違いは、河口域と湾域の間で、植物プランクトン以外の由来による POC の質や構成物質の違いか、他の未知の要因が原因だと考えられた。本研究の結果からは、特に、河口域での激しい塩分変動や連続的に供給される陸起源有機物が、湾域とのもっとも顕著な違いであると考えられた。大阪湾で陸起源有機物の堆積状況を調べた結果、影響域は淀川河道部と沿岸数 km の範囲に限られたことから、ほとんどの陸起源有機物が

この範囲で沈降堆積すると考えられ、沖合に堆積している有機物のほとんどが内部生産（その海域で増殖した植物プランクトン）によるものであることが報告されている（西田ら 2006）。また、冬季では POC の現存量の 80%以上が、夏季では 85%以上が内部生産由来であり、大阪湾における内部生産起源の有機物現存量は TOC 現存量の 47%に相当することも明らかにされている（星加ら 1998）。このことから、河口域に生息するヤブレッツボカビ類は落葉などの陸起源有機物を、沖合に生息しているヤブレッツボカビ類は、珪藻などの植物プランクトンの死骸などの海洋由来のデトライタスを分解しているものが多いことが示唆された。Raghukumar (2002) は、ヤブレッツボカビ類は植物プランクトンのブルームとの関係は低いですが、植物プランクトンのブルーム後にヤブレッツボカビ類現存量が増加していることから、植物デトライタスと関係がある可能性について予測した。このことから、特に陸起源有機物が少ない大阪湾では、クロロフィル *a* 濃度とは相関が低いですが、ヤブレッツボカビ類の細胞密度と植物プランクトン由来のデトライタスとは関係がある可能性が考えられた。

一方、夙川河口の浮遊性細菌はクロロフィル *a* 濃度、DOC と相関が見られ、Kimura ら (2001) の調査でも浮遊性細菌はクロロフィル *a* 濃度と相関が見られたため、浮遊性細菌は主に植物プランクトン由来の有機物を栄養源としている可能性が考えられた。一般的に、細菌の細胞数は植物プランクトンのブルームと関係がある (Cole et al. 1988, Müller-Niklas & Herndl 1996)。以上のことより、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌は、分解する有機物の種類を違えることによって、栄養源を分けあっている可能性が考えられた。

しばしば河口域で出現する *Schizochytrium* sp. 系統群は、培養条件下でよく外質ネットを発達させ、ヤブレッツボカビ類の中でも、高いセルラーゼ活性をもっていることが知られている (Goldstein & Belsky 1964, Nagano et al. 2011) (図 11)。また、Bongiorni & Dini (2002, 2004) も地中海に面した河口で *Schizochytrium aggregatum* の存在を報告している。さらに、*S. aggregatum* のタイプ株は、アメリカ合衆国東海岸のロングアイランド湾に面した小川の河口から分離されており、汽水環境であったと考えられる (Goldstein & Belsky 1964)。また、河口域から分離された *Oblongichytrium* sp. 1 系統群は、培養条件下で松花粉に向かって外質ネットを他に比べて太く伸ばしている様子が観察され、自然界中でも同様にして陸源有機物から栄養吸収していることが推測された (図 11)。以上のことから、河口域での主要系統群は、おそらく生育環境に高く適応していることが考えられた。

一方、河口域と沿岸域の双方で主要系統群であった *Oblongichytrium* sp. 2 系統群は、組成がグルコース、ポリペプトン、乾燥酵母エキスでできた d-GPY 培地では培養が非常に難しいため、

他のヤブレッツボカビ類とは大きく異なった資化性をもっている可能性が考えられた。

さらに過去の報告では、北海からは *Oblongichytrium multirudimentale*, *Aplanochytrium yorkensis* (Raghukumar & Gaertner 1980) が、アラビア海からは *Ap. yorkensis* (Raghukumar 1985) が、ハワイ沖の海域からは、環境DNAから *Aplanochytrium* や *Oblongichytrium* が報告がされている (Li et al. 2013)。加えて、Nakai et al. (2013) は、種特異的プライマーを使用した定量PCRを用いて、鹿児島県南部の薩摩-硫黄島周辺や、三陸の唐桑半島沖の海水から、*Aurantiochytrium*, *Botryochytrium*, *Oblongichytrium*, *Parietichytrium*, *Sicyoidochytrium*, *Schizochytrium*, *Ulkenia* の検出を試みて、*Aurantiochytrium* と *Oblongichytrium* を検出した。これらの過去の報告からも、大阪湾の主要系統群である *Oblongichytrium* や *Aplanochytrium* は高塩環境に広く生息していることが考えられた。このように、本研究で推測した各系統群が主に生息する環境の違いは、系統群の特徴や過去の報告と特に矛盾はなかった。

以上のことから、夙川河口と大阪湾で構成系統群を継続的に調査することによって、系統群は河口域と沿岸域によって棲み分け (habitat segregation) を行っている可能性が示唆された (図 22)。

6. 結論

6. 結論

本研究は、定点で継続的な調査を6年間行ってきたことによって、ヤブレッツボカビ類の細胞密度と構成系統群の季節変動の詳細を明らかにすることができた。その結果、ヤブレッツボカビ類の細胞密度は、冬より夏の暖かい季節の方が高い傾向にあり、さらに河川水の影響が大きい海域ほど顕著に高くなることが分かった。すなわち、水温と陸起源有機物の供給がヤブレッツボカビ類の細胞密度に大きく影響していることが推察された。そして、河川水の影響を受けている海域では、ヤブレッツボカビ類の急激な増減であるヤブレッツボカビ・スパイクが、春から晩夏にかけて1年おきまたは毎年起こることが明らかになった。

また、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の細胞密度から求めた炭素バイオマス量より、ヤブレッツボカビ類から動物プランクトンに到達するエネルギー量と、細菌を起点とした微生物ループを経由して動物プランクトンに到達するエネルギー量を比較した。その結果、河口域では浮遊性細菌の、平均して15.9%に相当するエネルギーがヤブレッツボカビ類から動物プランクトンに到達し、スパイク発生時にはそのエネルギーは50%以上にもなることが示唆された。このことは、ヤブレッツボカビ類は海洋生態学的に無視できない生物であることを示しており、特に河口域では、これまでの生態系概念に対して、ヤブレッツボカビ類を起点とした新しいエネルギー経路の存在を示唆した。さらに、ヤブレッツボカビ類が生合成する高度不飽和脂肪酸は、海産の魚類にとっては必須脂肪酸であるため、食物網の流れから獲得していると考えられており、高度不飽和脂肪酸の生産者としての役割からも、ヤブレッツボカビ類の海洋生態系に対する影響は大きいものと考えられた。

そして、それぞれのサンプルにおいて株の分離同定を行った結果、予想以上に多様な27系統群のヤブレッツボカビ類が生息し、今までに同定された株が位置しない10の未同定または新規の系統群の存在が分かった。これまで、ヤブレッツボカビ類は、すべての系統群が同様の栄養源を分解しており、類似したニッチをもっていることを前提としてその生態が考えられてきた。しかしながら、本研究によって、ヤブレッツボカビ類は河口域と沿岸域の海洋環境の違いから、生息している主要系統群が異なっており、さらに、それぞれの海域で系統群の季節変動が起こっていることが明らかになった。その結果から、系統群ごとに水温、塩分や栄養源の違いによって、棲み分けを行っている可能性が示唆された。両海域ともヤブレッツボカビ類の栄養源は、主にクロロフィル*a*を持っている状態の生きた植物プランクトン以外の由来による有機物であることが推測され、特に河口域では陸起源有機物を、沿岸域では植物プランクトンの死骸などの

海洋由来のデトライタスを栄養源としている可能性が考えられた。以上のことより、ヤブレッツボカビ類のより複雑な生態的役割が示唆された (図 22)。

また、ヤブレッツボカビ類は、セルラーゼなどの多くの細菌にとって難分解性の有機物を分解できる酵素活性をもっていることから、河口域に生息するヤブレッツボカビ類は陸起源有機物を分解している可能性が示唆された。一方、同海域に生息する浮遊性細菌は、その細胞密度とクロロフィル *a* 濃度に相関が見られたことから、主に植物プランクトンを栄養源としていることが考えられた。そのため、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌は異なるニッチをもつことが考えられた。よって、浮遊性細菌は易分解性の有機物を分解し、一方、ヤブレッツボカビ類は浮遊性細菌が分解できなかった、難分解性有機物を分解しているのではないかと推測した。海洋の溶解態有機物の 90%以上は難分解性有機物であると言われているため (永田 2006)、ヤブレッツボカビ類が難分解性有機物を生態系に迅速に組み込むことに貢献しているとするならば、海洋表層から深部への炭素輸送経路である生物ポンプの従来の解釈 (小池 2006, 山下ら 2006) について、影響を与えることになるかもしれない。さらに、*Oblongichytrium* sp. 2 系統群の株は、河口域と沿岸域の両方で主要系統群として生息していることが明らかになったにもかかわらず、他のヤブレッツボカビ類の系統群の多くの株が良好に生育できる d-GPY 培地では株の維持が難しい。そのため、*Oblongichytrium* sp. 2 系統群は、他の系統群と異なった特殊な栄養摂取様式を持つ可能性も考えられた。

本研究は、ヤブレッツボカビ類を特異的に松花粉で釣り上げる方法が確立されていたことよって、実施することができた。一方、分離方法が確立していないために、生態的インパクトが明らかになっていない他の真核従属栄養生物も多く存在していることが予想される。例えば、鞭毛虫類は微生物ループの中で細菌捕食者として重要な生物であるにも関わらず、固定剤で処理を行うと形態が変化してしまうことが多いため、近年、分子生物学的手法が導入されるようになって、初めてその多様性や重要性が明らかになった (中野 2006)。また、本研究の結果は、松花粉に走性があり、かつ、培地中で生育できたヤブレッツボカビ類の生態であり、海洋にいるすべてのヤブレッツボカビ類の生態が完全に把握できているとは考えにくい。過去の調査から、松花粉 MPN 法よりも、アクリフラビン直接計数法の方が計数されるヤブレッツボカビ類の細胞密度が一桁程度多いことから、松花粉 MPN 法によって存在が把握しきれていないヤブレッツボカビ類は海洋中にさらに存在することが予想された。実際に、真核生物に特異的なプライマーやラビリンチュラ類に特異的なプライマーを用いて、環境 DNA を解析することによって広義のラビリンチュラ類の多様性の把握が試みられており、本研究で分離された未同定の系統群

も分離されているが、それ以外の未同定の系統群の配列も多数検出されている (Collado-Mercado et al. 2010)。これらのことから、松花粉 MPN 法で検出しきれていない、ヤブレッツボカビ類の存在は容易に推測でき、ヤブレッツボカビ類は海洋生態系において、本研究で推測した炭素量バイオマス以上の生態的インパクトがあることが予想された。今後、さらに未知の系統群を含むヤブレッツボカビ類全体の多様性の把握を試みることは必要不可欠である。また、松花粉 MPN 法やアクリフラビン直接計数法を用いた細胞密度の測定や株の分離といった、古典的な方法による基礎的データの蓄積は続けて行っていくことはもちろん重要である。それに加えて、クローニングや次世代シーケンサーを用いて、環境 DNA 中のラビリンチュラ類の多様性を DNA レベルで把握したり、系統群ごとの特異的プライマーを用いた定量 PCR によって、系統群ごとに細胞密度を推定したりする分子生物学的手法を積極的に使っていくことによって、どのような系統群がそれぞれの程度存在しているのかを明らかにすることができると思われる。これらの古典的な方法と、分子生物学的手法を組み合わせることによって、海洋に生息するラビリンチュラ類の全体像を把握することにつながるだろう。

ヤブレッツボカビ類は様々な海洋環境中に生息し、その細胞密度の大きさから、海洋生態系における分解者としての役割が注目されてきた。本研究によって、ヤブレッツボカビ類の年間を通じた細胞密度と構成系統群の基礎的情報を提供することができ、海洋生態系に対して新たな認識を提唱することができた。しかしながら、ヤブレッツボカビ類が食物連鎖上でどの物質循環に関わっており、高次の生物量にどの程度の影響を及ぼしているのか、それぞれの系統群がどのような環境要因と関係して細胞密度が増減しているのか、何を食べ、何に食べられているのか、といった根本的なことはほとんど明らかになっていない。真のヤブレッツボカビ類の生態的インパクトを明らかにするためには、培養実験などを通してこれらの課題を明らかにしていかなければならない。本研究で分離した株が、今後の研究の礎となることを信じている。

引用文献

- Adl SM, Simpson AGB, Farmer MA, Andersen RA, Anderson OR, Barta JR, Bowser SS, Brugerolle G, Fensome RA, Fredericq S, James TY, Karpov S, Kugrens P, Krug J, Lane CE, Lewis LA, Lodge J, Lynn DH, Mann DG, Mccourt RM, Mendoza L, Moestrup Ø, Mozley-Standridge SE, Nerad TA, Shearer CA, Smirnov AV, Spiegel FW, Taylor MFJR (2005) The new higher-level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists. *The Journal of eukaryotic microbiology* 52: 399-451
- Adl SM, Simpson AGB, Lane CE, Lukeš J, Bass D, Bowser SS, Brown MW, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, Heiss A, Hoppenrath M, Lara E, Gall LL, Lynn DH, Mcmanus H, Mitchell EAD, Mozley-Stanridge SE, Parfrey LW, Pawlowski J, Rueckert S, Shadwick L, Schoch CL, Smirnov A, Spiegel FW (2012) The revised classification of eukaryotes. *The Journal of eukaryotic microbiology* 59: 429-493
- Amon JP, Perkins FO (1968) Structure of *Labyrinthula* sp. zoospores. *Journal of protozoology* 15: 543-546
- Anderson DM (1980) Effects of temperature conditioning on development and germination of *Gonyaulax tamarensis* (Dinophyceae) hypnozygotes. *Journal of Phycology* 16: 166-172
- Anderson OR, Cavalier-Smith T (2012) Ultrastructure of *Diplophrys parva*, a new small freshwater species, and a revised analysis of Labyrinthulea (Heterokonta). *Acta Protozoologica* 51: 291-304
- Anderson RS, Kraus BS, McGladdery SE, Reece KS, Stokes NA (2003) A thraustochytrid protist isolated from *Mercenaria mercenaria*: molecular characterization and host defense responses. *Fish & Shellfish Immunology* 15:183-194
- Azam F, Fenchel T, Field JG, Gray JS, Meyer-Reil LA, Thingstad F (1983) The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress Series* 10: 257-263
- Azevedo C, Corral L (1997) Some ultrastructural observations of a thraustochytrid (Protoctista, Labyrinthulomycota) from the clam *Ruditapes decussatus* (Mollusca, Bivalvia). *Diseases of Aquatic Organisms* 31: 73-78

- Bahnweg G, Sparrow FK Jr (1974a) Four new species of *Thraustochytrium* from antarctic regions, with notes on the distribution of zoosporic fungi in the antarctic marine ecosystems. *American Journal of Botany* 61: 754-766
- Bahnweg G, Sparrow FK Jr (1974b) Occurrence, distribution and kinds of zoosporic fungi in subantarctic and Antarctic waters. *Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven. Supplement* 5: 149-157
- Bajpai P, Bajpai PK, Ward OP (1991a) Production of docosahexaenoic acid by *Thraustochytrium aureum*. *Applied Microbiology and Biotechnology* 35: 706-710
- Bajpai PK, Bajpai P, Ward OP (1991b) Optimization of production of docosahexaenoic acid (DHA) by *Thraustochytrium aureum* ATCC 34304. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 68: 509-514
- Baldauf SL (2003) The deep roots of eukaryotes. *Science* 300: 1703-1706
- Barclay W, Zeller S (1996) Nutritional enhancement of *n*-3 and *n*-6 fatty acids in rotifers and *Artemia nauplii* by feeding spray-dried *Schizochytrium* sp. *Journal of the World Aquaculture Society* 27(3): 314-322
- Bell MV, Tocher DR (2009) Biosynthesis of polyunsaturated fatty acids in aquatic ecosystems: general pathways and new directions. In: Arts MT, Brett MT, Kainz MJ (eds), *Lipids in aquatic ecosystems*. Springer, New York, pp 211-236
- Bergh Ø, Børsheim KY, Bratbak G, Heldal M (1989) High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 340: 467-468
- Bigelow DM, Olsen MW, Gilbertson RL (2005) *Labyrinthula terrestris* sp. nov., a new pathogen of turf grass. *Mycologia* 97: 185-190
- Bongiorni L, Dini F (2002) Distribution and abundance of thraustochytrids in different Mediterranean coastal habitats. *Aquatic Microbial Ecology* 30: 49-56

- Bongiorni L, Dini F (2004) Thraustochytrids, fungoid protists in Mediterranean sandy shores. *Marine Biotechnology* 6: S71-S75
- Bongiorni L, Jain R, Raghukumar S, Aggarwal RK (2005a) *Thraustochytrium gaertnerium* sp. nov.: a new thraustochytrid stramenopilan protist from mangroves of Goa, India. *Protist* 156: 303-315
- Bongiorni L, Mirto S, Pusceddu A, Danovaro R (2005b) Response of benthic protozoa and thraustochytrid protists to fish farm impact in seagrass (*Posidonia oceanica*) and soft-bottom sediments. *Microbial Ecology* 50: 268-276
- Bongiorni L, Pignataro L, Santangelo G (2004) Thraustochytrids (fungoid protists): an unexplored component of marine sediment microbiota. *Scientia Marina* 68: 43-48
- Bongiorni L, Pusceddu A, Danovaro R (2005c) Enzymatic activities of epiphytic and benthic thraustochytrids involved in organic matter degradation. *Aquatic Microbial Ecology* 41: 299-305
- Bratbak G, Heldal M, Thingstad TF, Riemann B, Haslund OH (1992) Incorporation of viruses into the budget of microbial C-transfer. A first approach. *Marine Ecology Progress Series* 83: 273-280
- Bremer GB (1995) Lower marine fungi (labyrinthulomycetes) and the decay of mangrove leaf litter. *Hydrobiologia* 295: 89-95
- Bremer GB, Talbot G (1995) Cellulolytic enzyme activity in the marine protist *Schizochytrium aggregatum*. *Botanica Marina* 38: 37-41
- Calvo LMR, Walker JG, Burreson EM (1998) Prevalence and distribution of QPX, Quahog Parasite Unkonown, in hard clams *Mercenaria mercenaria* in Virginia, USA. *Diseases Aquatic Organisms* 33: 209-219
- Carlough LA, Meyer JL (1989) Protozoans in two southeastern blackwater rivers and their importance to trophic transfer. *Limnology and Oceanography* 34: 163-177
- Cavalier-Smith T (1981) Eukaryote kingdoms: seven or nine? *BioSystems* 14: 461-481

- Cavalier-Smith T (1986) The Kingdom Chromista: origin and systematics. In: Round FE, Chapman DJ (eds), *Progress in Phycological Research*, Volume 4. Biopress Ltd., Bristol, England pp 309-347
- Cavalier-Smith T, Allsopp MTEP, Chao EE (1994) Thraustochytrids are chromists, not fungi: 18S rRNA signatures of Heterokonta. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* 346: 387–397
- Chamberlain AHL (1980) Cytochemical studies on the cell walls of *Thraustochytrium* spp. *Botanica Marina* 23: 669-677
- Cienkowski L (1867) Über den Bau und die Entwicklung der Labyrinthuleen. *Archiv für mikroskopische Anatomie* 3: 274-310
- Cole JJ, Findlay S, Pace ML (1988) Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: a cross-system overview. *Marine Ecology Progress Series* 43: 1-10
- Coleman NK, Vestal JR (1987) An epifluorescent microscopy study of enzymatic hydrolysis of fluorescein diacetate associated with the ectoplasmic net elements of the protist *Thraustochytrium striatum*. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 841-843
- Collado-Mercado E, Radway JC, Collier JL (2010) Novel uncultivated labyrinthulomycetes revealed by 18S rDNA sequences from seawater and sediment samples. *Aquatic Microbial Ecology* 58: 215-228
- Damare V, Raghukumar S (2008) Abundance of thraustochytrids and bacteria in the equatorial Indian Ocean, in relation to transparent exopolymeric particles (TEPs). *FEMS Microbiology Ecology* 65: 40-49
- Damare V, Raghukumar S (2010) Association of the stramenopilan protists, the aplanochytrids, with zooplankton of the equatorial Indian Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 399: 53-68
- Deibel D, Powell CVL (1987) Comparison of the ultrastructure of the food-concentrating filter of two appendicularians. *Marine Ecology Progress Series* 39: 81-85

- del Giorgio PA, Bird DF, Prairie YT, Planas D (1996) Flow cytometric determination of bacterial abundance in lake plankton using the green nucleic acid stain SYTO 13. *Limnology and Oceanography* 41: 783-789
- Dick MW (2001) *Straminipilous fungi*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, the Netherlands
- Ducklow H (2000) Bacterial production and biomass in the oceans. In: Kirchman DL (ed), *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss, Inc, Canada pp 85-120
- Estudillo-del Castillo C, Gapasin RS, Leñaño EM (2009) Enrichment potential of HUFA-rich thraustochytrid *Schizochytrium mangrovei* for the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture* 293: 57-61
- Fan KW, Chen F, Jones EBG, Vrijmoed LLP (2000) Utilization of food processing waste by thraustochytrids. *Fungal Diversity* 5: 185-194
- Fan KW, Vrijmoed LLP, Jones EBG (2002) Zoospore chemotaxis of mangrove thraustochytrids from Hong Kong. *Mycologia* 94:569-578
- Fenchel T (1988) Marine plankton food chains. *Annual Reviews Ecology and Systematics* 19: 19-38
- Fenchel T (2008) The microbial loop - 25 years later. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 366: 99-103
- Fuhrman JA (1999) Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature* 399: 541-548
- Fukuda R, Ogawa H, Nagata T, Koike I (1998) Direct determination of carbon and nitrogen contents of natural bacterial assemblages in marine environments. *Applied Environmental Microbiology* 64: 3352-3358
- Furuita H, Takeuchi T, Watanabe T, Fujimoto H, Sekiya S, Imaizumi K (1996) Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and *n*-3 highly unsaturated fatty acid. *Fisheries Science* 62: 372-379

- Gaerther A, Raghukumar S (1980) Ecology of thraustochytrids (lower marine fungi) in the fladen ground and other parts of the North sea. I. Meteor Forschungs-Ergebnisse A 22: 165-185
- Gaertner A (1967) Niedere mit pollen koderbare pilze in dersudlichen nordsee. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven 10: 159-165
- Gaertner A (1968) Eine Methode des quantitativen Nachweises niederer, mit Pollen köderbarer Pilze im Meerwasser und im Sediment. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven. Supplement 3: 75-92
- Gaertner A (1974) Vorkommen und verteilung mariner niederer pilze in der nordsee und im nordmeerbecken. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven. Supplement 5: 123-147
- Gaertner A (1979) Some fungal parasites found in the diatom populations of the Rusfjord area (South Norway) during March 1979. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven 18: 29-33.
- Gaertner A (1982) Lower marine fungi from the Northwest African upwelling areas and from the Atlantic off Portugal. Meteor Forsch-Ergebnisse D 34: 9-30
- Gladyshev MI, Sushchik NN, Makhutova ON (2013) Production of EPA and DHA in aquatic ecosystems and their transfer to the land. Prostaglandins & Other Lipid Mediators 107: 117-126
- Goldstein S (1963) Studies of a new species of thraustochytrium that displays light stimulated growth. Mycologia 55: 799-811
- Goldstein S, Belsky M (1964) Axenic culture studies of a new marine phycomycete possessing an unusual type of asexual reproduction. American Journal of Botany 51: 72-78
- Gomaa F, Mitchell EAD, Lara E (2013) Amphitremita (Poche, 1913) is a new major, ubiquitous labyrinthulomycete clade. Plos One 8: e53046
- Graham MD, Vinebrooke RD, Turner M (2006) Coupling of boreal forests and lakes: Effects of conifer pollen on littoral communities. Limnology and Oceanography 51: 1524-1529

- Gunderson JH, Elwood H, Ingold A, Kindle K, Sogin ML (1987) Phylogenetic relationships between chlorophytes, chrysophytes, and oomycetes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84: 5823-5827
- Hansen B, Bjørnsten PK, Hansen PJ (1994) The size ratio between planktonic predators and their prey. *Limnology and Oceanography* 39: 395-403
- Hayashi M, Yukino T, Watanabe F, Miyamoto E, Nakano Y (2007) Effect of vitamin B12-enriched thraustochytrids on the population growth of rotifers. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 71: 221-225
- Hobbie JE, Daley RJ, Jasper S (1977) Use of nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Applied and Environmental Microbiology* 33: 1225-1228
- Honda D, Yokochi T, Nakahara T, Erata M, Higashihara T (1998) *Schizochytrium limacinum* sp. nov., a new thraustochytrid from a mangrove area in the west Pacific Ocean. *Mycological Research* 102: 439-448
- Honda D, Yokochi T, Nakahara T, Raghukumar S, Nakagiri A, Schaumann K, Higashihara T (1999) Molecular phylogeny of labyrinthulids and thraustochytrids based on the sequencing of 18S ribosomal RNA gene. *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 46: 637-647
- Huang J, Aki T, Yokochi T, Nakahara T, Honda D, Kawamoto S, Shigeta S, Ono K, Suzuki O (2003) Grouping newly isolated docosahexaenoic acid-producing thraustochytrids based on their polyunsaturated fatty acid profiles and comparative analysis of 18S rRNA genes. *Marine Biotechnology* 5: 450-457
- Imai I (1989) Cyst formation of the noxious red tide flagellate *Chattonella marina* (Raphidophyceae) in culture. *Marine Biology* 103: 235-239
- Izquierdo MS, Watanabe T, Takeuchi T, Arakawa T, Kitajima C (1989) Requirement of larval red seabream *Pagrus major* for essential fatty acids. *Nippon Suisan Gakkai Shi* 55: 859-867

- Jonsson PR (1986) Particle size selection, feeding rates and growth dynamics of marine planktonic oligotrophic biomass. *Limnology and Oceanography* 24: 928-935
- Kaya K, Nakazawa A, Matsuura H, Honda D, Inouye I, Watanabe MM (2011) *Thraustochytrid Aurantiochytrium* sp. 18W-13a accumulates high amounts of squalene. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 75: 2246-2248
- Kazama FY (1974) Ultrastructure of *Thraustochytrium* sp. zoospores. IV. External morphology with notes on the zoospores of *Schizochytrium* sp. *Mycologia* 66: 272-280
- Kimura H, Fukuba T, Naganuma T (1999) Biomass of thraustochytrid protocists in coastal water. *Marine Ecology Progress Series* 189: 27-33
- Kimura H, Naganuma T (2001) Thraustochytrids: a neglected agent of the marine microbial food chain. *Aquatic Ecosystem Health & Management* 4: 13-18
- Kimura H, Sato M, Sugiyama C, Naganuma T (2001) Coupling of thraustochytrids and POM, and of bacterio- and phytoplankton in a semi-enclosed coastal area: implication for different substrate preference by the planktonic decomposers. *Aquatic Microbial Ecology* 25: 293-300
- Kirchman DL (2008) Introduction and overview. In: Kirchman DL (ed), *Microbial ecology of the oceans*, second edition. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, pp 1-26
- Klee AJ (1993) A computer program for the determination of most probable number and its confidence limits. *Journal of Microbiological Methods* 18: 91-98
- Kumon Y, Yokoyama R, Haque Z, Yokochi T, Honda D, Nakahara T (2006) A new labyrinthulid isolate that produces only docosahexaenoic acid. *Marine Biotechnology* 8: 170-177
- Kumon Y, Yokoyama R, Yokochi T, Honda D, Nakahara T (2003) A new labyrinthulid isolate, which solely produces *n*-6 docosapentaenoic acid. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63: 22-28
- Lampert W, Sommer U (1997) Food chains and food webs. In: Lampert W, Sommer U (eds) *Limnoecology*. Oxford University Press, New York, pp 256-259

- Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, Chenna R, McGettigan PA, McWilliam H, Valentin F, Wallace IM, Wilm A, Lopez R, Thompson JD, Gibson TJ, Higgins DG (2007) Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948
- Leander CA, Porter D, Leander BS (2004) Comparative morphology and molecular phylogeny of aplanochytrids (Labyrinthulomycota). *European Journal of Protistology* 40: 317-328
- Leipe DD, Wainright PO, Gunderson JH, Porter D, Patterson DJ, Valois F, Himmerich S, Sogin ML (1994) The stramenopiles from a molecular perspective: 16S-like rRNA sequences from *Labyrinthuloides minuta* and *Cafeteria roenbergensis*. *Phycologia* 33: 369-377
- Levine ND, Corliss JO, Cox FEG, Deroux G, Grain J, Honigberg BM, Leedale GF, Loeblich AR, Lom J, Lynn DH, Merinfeld D, Page FC, Poljansky G, Sprague V, Vavra J, Wallace FG (1980) A newly revised classification of the Protozoa. *The Journal of Protozoology* 27: 37-58
- Lewis TE, Nichols PD, McMeekin TA (1999) The Biotechnological potential of thraustochytrids. *Marine Biotechnology* 1: 580-587
- Li Q, Wang X, Liu X, Jiao N, Wang G (2013) Abundance and novel lineages of thraustochytrids in Hawaiian waters. *Microbial Ecology* 66: 823-830
- Li Y, Monroig O, Zhang L, Wang S, Zheng X, Dick JR, You C, Tocher DR (2010) Vertebrate fatty acyl desaturase with $\Delta 4$ activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 16840-16845
- López-García P, Rodríguez-Valera F, Pedros-Alio Carios, Moreira D (2001) Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton. *Nature* 409: 603-607
- Matsuura H, Nakazawa A, Ueda M, Honda D, Watanabe MM, Kaya K (2012) On the bio-rearrangement into fully saturated fatty acids-containing triglyceride in *Aurantiochytrium* sp. *Procedia Environmental Sciences* 15: 66-72
- Meesapyodsuk D, Qiu X (2012) The front-end desaturase: structure, function, evolution and biotechnological use. *Lipids* 47: 227-237

- Miller JD, Jones EBG (1983) Observations on the association of thraustochytrid marine fungi with decaying seaweed. *Botanica Marina* 26: 345-351
- Moon-van der Staay SY, Wachter RD, Vulot D (2001) Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature* 409: 607-610
- Moro I, Negrisolo E, Callegaro A, Andreoli C (2003) *Aplanochytrium stocchinoi* a new labyrinthulomycota from the southern ocean (Ross Sea, antarctica). *Protist* 154: 331-340
- Moss ST (1980) Ultrastructure of the endomembrane-sagenogenetosome-ectoplasmic net complex in *Ulkenia visurgensis* (Thraustochytriales). *Botanica Marina* 23: 73-94
- Moss ST (1985) An ultrastructural study of taxonomically significant characters of the Thraustochytriales and the Labyrinthulales. *Botanical Journal of the Linnean Society* 91: 329-357
- Muehlstein LK, Porter D, Short FT (1988) *Labyrinthula* sp., a marine slime mold producing the symptoms of wasting disease in eelgrass, *Zostera marina*. *Marine Biology* 99: 465-472
- Müller-Niklas G, Herndl GJ (1996) Dynamics of bacterioplankton during a phytoplankton bloom in the high Arctic waters of the Franz-Joseph Land archipelago. *Aquatic Microbial Ecology* 11: 111-118
- Murray MG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research* 8: 4321-4325
- Nagano N, Matsui S, Kuramura T, Taoka Y, Honda D, Hayashi M (2011) The distribution of extracellular cellulase activity in marine Eukaryotes, thraustochytrids. *Marine Biotechnology* 13: 133-136
- Naganuma T, Kimura H, Karimoto R, Pimenov NV (2006) Abundance of planktonic thraustochytrids and bacteria and the concentration of particulate ATP in the Greenland and Norwegian Seas. *Polar Bioscience* 20: 37-45
- Naganuma T, Takasugi H, Kimura H (1998) Abundance of thraustochytrids in coastal plankton. *Marine Ecology Progress Series* 162: 105-110

- Nagasaki K, Ando M, Itakura S, Imai I, Ishida Y (1994) Viral mortality in the final stage of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) red tide. *Journal of Plankton Research* 16: 1595-1599
- Nagasaki K, Tomaru Y, Nakanishi K, Hata N, Katanozaka N, Yamaguchi M (2004) Dynamics of *Heterocapsa circularisquama* (Dinophyceae) and its viruses in Ago Bay, Japan. *Aquatic Microbial Ecology* 34: 219-226
- Nagata T (2000) Production mechanisms of dissolved organic matter. In: Kirchman DL (ed), *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley-Liss, Inc, Canada, pp 121-152
- Nagata T (2008) Organic matter-bacteria interactions in seawater. In: Kirchman DL (ed), *Microbial Ecology of the Oceans, Second Edition*. John Wiley & Sons, Inc, Canada, pp 207-241
- Nagata T & Kirchman DL (1997) Roles of submicron particles and colloids in microbial food webs and biogeochemical cycles within marine environments. In: Jones JG (ed), *Advances in Microbial Ecology, Volume 15*. Plenum Press, New York, pp81-103
- Nakahara T, Yokochi T, Higashihara T, Tanaka S, Yaguchi T, Honda D (1996) Production of docosahexaenoic and docosapentaenoic acid by *Schizochytrium* sp. isolated from Yap Island. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 73: 1421-1426
- Nakai R, Nakamura K, Jadoon WA, Kashihara K, Naganuma T (2013) Genus-specific quantitative PCR of thraustochytrid protists. *Marine Ecology Progress Series* 486: 1-12
- Nakayama T, Watanabe S, Mitsui K, Uchida H, Inouye I (1996) The phylogenetic relationship between the Chlamydomonadales and Chlorococcales inferred from 18SrDNA sequence data. *Phycological Research* 44: 47-55
- Nakazawa A, Kokubun Y, Matsuura H, Yonezawa N, Kose R, Yoshida M, Tanabe Y, Kusuda E, Thang DV, Ueda M, Honda D, Mahakhant A, Kaya K, Watanabe MM (2014) TLC screening of thraustochytrid strains for squalene production. *Journal of Applied Phycology* 26: 29-41

- Nakazawa A, Matsuura H, Kose R, Ito K, Ueda M, Honda D, Inouye I, Kaya K, Watanabe MM (2012a)
Optimization of biomass and fatty acid production by *Aurantiochytrium* sp. strain 4W-1b.
Procedia Environmental Sciences 15: 27-33
- Nakazawa A, Matsuura H, Kose R, Kato S, Honda D, Inouye I, Kaya K, Watanabe MM (2012b)
Optimization of culture conditions of the thraustochytrid *Aurantiochytrium* sp. strain 18W-13a for
squalene production. *Bioresource Technology* 109: 287-291
- Newell SY (2003) Fungal content and activities in standing-decaying leaf blades of plants of the
Georgia Coastal Ecosystems research area. *Aquatic Microbial Ecology* 32: 95-103
- Noble RT, Fuhrman JA (1998) Use of SYBR Green I for rapid epifluorescence counts of marine viruses
and bacteria. *Aquatic Microbial Ecology* 14: 113-118
- Olive LS (1975) Labyrinthulina (Labyrinthulas and Thraustochytrids). In: Olive LS (ed), *The
Mycetozoans*. Academic, New York, pp 215-292
- Patterson DJ (1989) Stramenopiles: chromophytes from a protistan perspective. In: Green JC,
Leadbeater BSC, Diver WI (eds), *The chromophyte algae: problems and perspectives*, Systematics
Association Special 38. Clarendon Press, Oxford, p 357-379
- Paul JH (1982) Use of Hoechst dyes 33258 and 33342 for enumeration of attached and planktonic
bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 43: 939-944
- Perkins FO (1972) The ultrastructure of holdfasts, "rhizoids" and "slime track" in thraustochytriaceous
fungi and *Labyrinthula* spp. *Archives of Microbiology* 84: 95-118
- Perkins FO (1974) Phylogenetic consideration of the problematic thraustochytriaceous - labyrinthulid -
Dermocystidium complex based on observation of fine structure. *Veröffentlichungen des
Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven* 5: 45-63
- Pokorny KS (1967) *Labyrinthula*. *The Journal of Protozoology* 14: 697-708
- Polglase JL (1980) A preliminary report on the thraustochytrid(s) and labyrinthulid(s) associated with a
pathological condition in lesser octopus *Eledone cirrhosa*. *Botanica Marina* 23: 699-706

- Pomeroy LR (1974) The ocean's food web, a changing paradigm. *Bioscience* 24: 499-504
- Pomeroy LR, Williams PJI, Azam F, Hobbie JE (2007) The microbial loop. *Oceanography* 20: 28-33
- Porter D (1972) Cell division in the marine slime mold, *Labyrinthula* sp. and the role of the bothrosome in extracellular membrane production. *Protoplasma* 74: 427-448
- Porter D (1974) Phylogenetic considerations of the Thraustochytriaceae and Labyrinthulaceae. *Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven. Supplement* 5: 19-44
- Porter D (1989) Phylum Labyrinthulomycota. In: Margulis L, Corliss JO, Melkonian M, Chapman DJ (eds), *Handbook of Protoctista*. Jones and Bartlett Publishers, Boston, MA, pp 388-398
- Porter K, Sherr EB, Sherr BF, Pace M, Sanders RW (1985) Protozoa in planktonic food webs. *The Journal of Protozoology* 32: 409-415
- Porter KG, Feig YS (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnology and Oceanography* 25: 943-948
- Pratoomyot J, Srivilas P, Noiraksar T (2005) Fatty acids composition of 10 microalgal species. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 27: 1179-1187
- Quick JA (1974a) A new marine *Labyrinthula* with unusual locomotion. *Transactions of the American Microscopical Society* 93: 52-61
- Quick JA (1974b) *Labyrinthuloides schizochytrids* n. sp., a new marine labyrinthula with spheroid "spindle" cells. *Transactions of the American Microscopical Society* 93: 344-365
- Raghukumar C (1987a) Fungal parasites of the marine green algae, *Cladophora* and *Rhizoclonium*. *Botanica Marina* 29: 289-297
- Raghukumar C (1986b) Thraustochytrid fungi associated with marine algae. *Indian Journal of Marine Sciences* 15: 121-122
- Raghukumar C (1987) Fungal parasites of marine algae from Mandapam (South India). *Diseases of Aquatic Organisms* 3: 137-145

- Raghukumar C, Nagarkar S, Raghukumar S (1992) Association of thraustochytrids and fungi with living marine algae. *Mycological Research* 96: 542-546
- Raghukumar S (1985) Enumeration of thraustochytrids (heterotrophic microorganisms) from the Arabian Sea. *Mahasagar-Bulletin of the National Institute of Oceanography* 18: 457-465.
- Raghukumar S (1988) *Schizochytrium octosporum* sp. nov. and other thraustochytrids from the North Sea (Rosfjord, Norway). *Transactions of the British Mycological Society* 90: 273-278
- Raghukumar S (2002) Ecology of the marine protists, the Labyrinthulomycetes (thraustochytrids and labyrinthulids). *European Journal of Protistology* 38: 127-145
- Raghukumar S, Gaertner A (1980) Ecology of the thraustochytrids (lower marine fungi) in the Fladen Ground and other parts of the North Sea II. *Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven* 18: 289-308
- Raghukumar S, Raghukumar C (1999) Thraustochytrid fungoid protists in faecal pellets of the tunicate *Pegea confoederata*, their tolerance to deep-sea conditions and implication in degradation processes. *Marine Ecology Progress Series* 190: 133-140
- Raghukumar S, Raghukumar C, Rajendran A (1990) Abundance of thraustochytrid fungi in the Arabian Sea. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 31: 351-358
- Raghukumar S, Ramaiah N, Raghukumar C (2001) Dynamics of thraustochytrid protists in the water column of the Arabian Sea. *Aquatic Microbial Ecology* 24: 175-186
- Raghukumar S, Schaumann K (1993) An epifluorescence microscopy method for direct detection and enumeration of the fungilike marine protists, the thraustochytrids. *Limnology and Oceanography* 38: 182-187
- Raghukumar S, Sharma S, Raghukumar C, Sathe-Pathak V, Chandramohan D (1994) Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. IV. Laboratory studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora aquiculata* Blume. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 183: 113-131

- Ralph PJ, Short FT (2002) Impact of the wasting disease pathogen, *Labyrinthula zosterae*, on the photobiology of eelgrass *Zostera marina*. *Marine Ecology Progress Series* 226: 265-271
- Ramaiah N (2006) A review on fungal diseases of algae, marine fishes, shrimps and corals. *Indian Journal of Marine Sciences* 35: 380-387
- Ramaiah N, Raghukumar S, Mangesh G, Madhupratap M (2005) Seasonal variations in carbon biomass of bacteria, thraustochytrids and microzooplankton in the Northern Arabian Sea. *Deep-sea research. Part II. Topical studies in oceanography*, 52: 1910-1921
- Rassoulzadegan F, Laval-Peuto M, Sheldon RW (1988) Partitioning of the food ration of marine ciliates between pico- and nanoplankton. *Hydrobiologia* 159: 75-88
- Ryther JH (1969) Photosynthesis and fish production in the sea. *Science* 166: 72-76
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4: 406-425
- Sakaguchi K, Matsuda T, Kobayashi T, Ohara J, Hamaguchi R, Abe E, Nagano N, Hayashi M, Ueda M, Honda D, Okita Y, Taoka Y, Sugimoto S, Okino N, Ito M (2012) Versatile transformation system that is applicable to both multiple transgene expression and gene targeting for thraustochytrids. *Applied Environmental Microbiology* 78:3193-3202
- Sanders RW (1991) Trophic strategies among heterotrophic flagellates. In: Patterson DJ & Larsen J (eds), *The biology of free-living heterotrophic flagellates*. Clarendon Press, Oxford, pp 21-38
- Sanders RW, Caron DA, Berninger UG (1992) Relationships between bacteria and heterotrophic nanoplankton in marine and fresh waters: an inter-ecosystem comparison. *Marine Ecology Progress Series* 86: 1-14
- Santangelo G, Bongiorni L, Pignataro L (2000) Abundance of thraustochytrids and ciliated protozoans in a Mediterranean sandy shore determined by an improved, direct method. *Aquatic Microbial Ecology* 23: 55-61

- Sathe-Pathak V, Raghukumar S, Raghukumar C, Sharma S (1993) Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. I - Field studies on decomposition of the brown alga *Sargassum cinereum* J. Ag. Indian Journal of Marine Sciences 22: 159-167
- Schärer L, Knoflach D, Vizoso DB, Rieger G, Peintner U (2007) Thraustochytrids as novel parasitic protists of marine free-living flatworms: *Thraustochytrium caudivorum* sp. nov. parasitizes *Macrostomum lignano*. Marine Biology 152: 1095-1104
- Schroeder DC, Oke J, Malin G, Wilson WH (2002) Coccolithovirus (Phycodnaviridae): characterisation of a new large dsDNA algal virus that infects *Emiliana huxleyi*. Archives Virology 147: 1685-1698
- Sharma S, Raghukumar C, Raghukumar S, Sathe-Pathak V, Chandramohan D (1994) Thraustochytrid and fungal component of marine detritus II. Laboratory studies on decomposition of the brown alga *Sargassum cinereum* J. Ag. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 175: 227-242
- Short FT, Porter D, Iizumi H, Aioi K (1993) Occurrence of the eelgrass pathogen *Labyrinthula zosterae* in Japan. Diseases of Aquatic Organisms 16: 73-77
- Siboni N, Rasoulouniriana D, Ben-Dov E, Kramarsky-Winter E, Sivan A, Loya Y, Hoegh-Guldberg O, Kushmaro A (2010) Stramenopile microorganisms associated with the massive coral *Favia* sp. The Journal of Eukaryotic Microbiology 57: 236-244
- Song X, Zhang X, Guo N, Zhu L, Kuang C (2007) Assessment of marine thraustochytrid *Schizochytrium limacinum* OUC88 for mariculture by enriched feeds. Fisheries Science 73: 565-573
- Sprecher H (2000) Metabolism of highly unsaturated *n*-3 and *n*-6 fatty acids. Biochimica et Biophysica Acta 1486: 219-231
- Sridhar KR (2012) Decomposition of materials in the sea. In: Jones EBG, Pang KL (eds), Marine fungi and fungal-like organisms. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin/Boston, pp 475-500

- Steele JH (1974) The structure of marine ecosystems. Harvard University Press, London, 128p
- Stokes NA, Ragone Calvo LM, Reece KS, Bureson EM (2002) Molecular diagnostics, field validation, and phylogenetic analysis of Quahog Parasite Unknown (QPX), a pathogen of the hard clam *Mercenaria mercenaria*. Diseases Aquatic Organisms 52: 233-247
- Suttle CA (2005) Viruses in the sea. Nature 437: 356-361
- Takahashi Y, Yoshida M, Inouye I, Watanabe MM (2014) *Diplophrys mutabilis* sp. nov., a new member of Labyrinthulomycetes from freshwater habitats. Protist 165: 50-65
- Takao Y, Mise K, Nagasaki K, Okuno T, Honda D (2006) Complete nucleotide sequence and genome organization of a single-stranded RNA virus infecting the marine fungoid protist *Schizochytrium* sp. Journal of General Virology 87: 723-733
- Takao Y, Nagasaki K, Honda D (2007) Squashed ball-like dsDNA virus infecting a marine fungoid protist *Sicyoidochytrium minutum* (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes). Aquatic Microbial Ecology 49: 101-108
- Takao Y, Nagasaki K, Mise K, Okuno T, Honda D (2005) Isolation and characterization of a novel single-stranded RNA virus infectious to a marine fungoid protist, *Schizochytrium* sp. (Thraustochytriaceae, Labyrinthulea). Applied and Environmental Microbiology 71: 4516-4522
- Takeuchi T (2014) Progress on larval and juvenile nutrition to improve the quality and health of seawater fish: a review. Fisheries Science 80: 389-403
- Tamura K, Nei M (1993) Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. Molecular Biology and Evolution 10: 512-526
- Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S (2011) MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. Molecular Biology and Evolution 28: 2731-2739

- Taoka Y, Nagano N, Okita Y, Izumida H, Sugimoto S, Hayashi M (2009) Extracellular enzymes produced by marine eukaryotes, thraustochytrids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 73: 180-182
- Thingstad TF (2000) Elements of theory for the mechanisms controlling abundance, diversity, and biogeochemical role of lytic viruses in aquatic systems. *Limnology and Oceanography* 45: 1320-1328
- Tocher DR (2010) Fatty acid requirements in ontogeny of marine and freshwater fish. *Aquaculture Research* 41: 717-732
- Tomaru Y, Hata N, Masuda T, Tsuji M, Igata K, Masuda Y, Yamatogi T, Sakaguchi M, Nagasaki K (2007) Ecological dynamics of the bivalve-killing dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* and its infectious viruses in different locations of western Japan. *Environmental Microbiology* 9: 1376-1383
- Tomaru Y, Shirai Y, Nagasaki K (2008a) Ecology, physiology and genetics of a phycodnavirus infecting the noxious bloom-forming raphidophyte *Heterosigma akashiwo*. *Fisheries Science* 74: 701-711
- Tomaru Y, Shirai Y, Suzuki H, Nagumo T, Nagasaki K (2008b) Isolation and characterization of a new single-stranded DNA virus infecting the cosmopolitan marine diatom *Chaetoceros debilis*. *Aquatic Microbial Ecology* 50: 103-112
- Tomaru Y, Tarutani K, Yamaguchi M, Nagasaki K (2004) Quantitative and qualitative impacts of viral infection on a *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) bloom in Hiroshima Bay, Japan. *Aquatic Microbial Ecology* 34: 227-238
- Tsui CKM, Marshall W, Yokoyama R, Honda D, Lippmeier JC, Craven KD, Peterson PD, Berbee ML (2009) Labyrinthulomycetes phylogeny and its implications for the evolutionary loss of chloroplasts and gain of ectoplasmic gliding. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 50: 129-140

- Ulken A (1979) Phycomycetenfunde in der Sargassosee. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven 18: 21-27
- Ulken A (1983) Phycomyceten im watt des jadebusens. Veröffentlichungen des Instituts für Meeresforschung in Bremerhaven 19: 177-183
- Ulken A (1986) Estimation of thraustochytrid propagules in two mangrove swamps. Botanica Marina 29: 85-89
- Ulken A, Jäeckle I, Bahnweg G (1985) Morphology, nutrition and taxonomy of an *Aplanochytrium* sp. from the Sargasso Sea. Marine Biology 85: 89-95
- Uye S (1986) Impact of copepod grazing on the red-tide flagellate *Chattonella antiqua*. Marine Biology 92: 35-43
- Uye S, Nagano N, Tamaki H (1996) Geographical and seasonal variations in abundance, biomass and estimated production rates of microzooplankton in the inland sea of Japan. Journal of Oceanography 52: 689-703
- Uye S, Shimazu T (1997) Geographical and seasonal variations in abundance, biomass and estimated production rates of meso- and macrozooplankton in the inland sea of Japan. Journal of Oceanography 53: 529-538
- Vergeer LHT, den Hartog C (1994) Omnipresence of Labyrinthulaceae in seagrasses. Aquatic Botany 48: 1-20
- Volkman JK, Tanoue E (2002) Chemical and biological studies of particulate organic matter in the ocean. Journal of Oceanography 58: 265-279
- Wang G, Wang X, Liu X, Li Q (2012) Diversity and biogeochemical function of planktonic fungi in the ocean. In: Raghukumar C (ed), Biology of marine fungi. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, pp 71-88
- Warude D, Jpshi K, Harsulkar A (2006) Polyunsaturated fatty acids: biotechnology. Critical Reviews in Biotechnology 26: 83-93

- Watanabe T, Arakawa T, Takeuchi T, Satoh S (1989a) Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficiency in juvenile striped jack *Pseudocaranx dentex*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1989-1995
- Watanabe T, Izquierdo MS, Takeuchi T, Satoh S, Kitajima C (1989b) Comparison between eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in terms of essential fatty acid efficacy in larval red seabream. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55: 1635-1640
- Watson SW, Raper KB (1957) *Labyrinthula minuta* n. sp. *Journal of General Microbiology* 17: 368-377
- Whyte SK, Cawthorn RJ, McGladdery SE (1994) QPX (Quahaug Parasite X), a pathogen of northern quahaug *Mercenaria mercenaria* from the Gulf of St. Lawrence, Canada. *Diseases of Aquatic Organisms* 19: 129-136
- Wong MKM, Vrijmoed LLP, Au DWT (2005) Abundance of thraustochytrids on fallen decaying leaves of *Kandelia candel* and mangrove sediments in Futian National Nature Reserve, China. *Botanica Marina* 48: 374-378
- Yamasaki T, Aki T, Mori Y, Yamamoto T, Shinozaki M, Kawamoto S, Ono K (2007) Nutritional enrichment of larval fish feed with thraustochytrid producing polyunsaturated fatty acids and xanthophylls. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 104: 200-206
- Yang HL, Lu CK, Chen SF, Chen YM, Chen YM (2010) Isolation and characterization of taiwanese heterotrophic microalgae: screening of strains for docosahexaenoic acid (DHA) production. *Marine Biotechnology* 12: 173-185
- Yokochi T, Honda D, Higashihara T, Nakahara T (1998) Optimization of docosahexaenoic acid production by *Schizochytrium limacinum* SR21. *Applied Microbiology and Biotechnology* 49: 72-76

- Yokoyama R, Honda D (2007) Taxonomic rearrangement of the genus *Schizochytrium* sensu lato based on morphology, chemotaxonomic characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Schizochytrium* and erection of *Aurantiochytrium* and *Oblongichytrium* gen. nov. *Micoscience* 48: 199-211
- Yokoyama R, Salleh B, Honda D (2007) Taxonomic rearrangement of the genus *Ulkenia* sensu lato based on morphology, chemotaxonomical characteristics, and 18S rRNA gene phylogeny (Thraustochytriaceae, Labyrinthulomycetes): emendation for *Ulkenia* and erection of *Botryochytrium*, *Parietichytrium* and *Sicyoidochytrium* gen. nov. *Mycoscience* 48: 329-341
- Yoshimatsu T, Imoto H, Hayashi M, Toda K, Yoshimura K (1997) Preliminary results in improving essential fatty acids enrichment of rotifer cultured in high density. *Hydrobiologia* 358: 153-157
- Zhukova NV, Aizdaicher NA (1995) Fatty acid composition of 15 species of marine microalgae. *Phytochemistry* 39: 351-356
- 石橋 靖朗, 竹内 俊郎, 清水 健 (1997) アルテミア給餌期のブリ仔稚魚の活力に対する EPA の DHA 代替効果. *日本水産学会誌* 63: 765-772
- 上 真一 (2006) 海洋漂泳層の食物連鎖の基本概念と今日的課題, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 178-195
- 太田 尚志 (2008) 微小動物プランクトンの増殖と摂食について, 「海洋プランクトン生態学 (谷口旭監修)」, 成山堂書店, 東京, pp 83-108
- 鏡味 麻衣子 (2012) 植物プランクトンの消失過程と生態系機能, 「淡水生物学のフロンティア (日本生態学会編)」, 共立出版, 東京, pp 153-163
- 小池 勲夫 (2006) 海洋における懸濁粒子の動態 -表層における凝集と沈降を中心として-, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 232-246
- 齋藤 洋昭 (1996) 海洋生物と *n*-3 高度不飽和脂肪酸. *化学と生物* 34: 107-113

- 佐藤 敦一, 竹内 俊郎 (2009) マガレイ仔魚のドコサヘキサエン酸 (DHA) 要求. 日本水産学会誌 75: 28-37
- 鈴木 利一, 伊藤 博, 中町 美和, 加藤 聡 (2008) 繊毛虫プランクトンの分布と現存量, 「海洋プランクトン生態学 (谷口旭監修)」, 成山堂書店, 東京, pp 109-129
- 高尾 祥丈 (2005) ヤブレッツボカビ類に感染するウイルスの生理・生態および分子生物学的研究. 甲南大学大学院 自然科学研究科 博士学位論文
- 竹内 俊郎 (1991) 魚類における必須脂肪酸要求の多様性. 化学と生物 29: 571-580
- 竹内 俊郎 (2009) 海産魚介類種苗の健全性向上に関する栄養学的研究. 日本水産学会誌 75: 623-635
- 竹内 俊郎, 石崎 靖朗, 渡邊 武 (1998) DHA 含量が異なるワムシを摂餌したブリ仔稚魚のアルテミア摂餌期における DHA 要求. 日本水産学会誌 64: 270-275
- 永田 俊 (2006) 微生物ループの基本概念, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 84-102
- 中野 伸一 (2000) 湖沼有機物動態における微生物ループでの原生動物の役割. 日本生態学会誌 50: 41-54
- 中野 伸一 (2003) 湖沼・海洋の微生物食物網における摂食者・被食者としての鞭毛虫. 月刊海洋号外 35: 83-93
- 中野 伸一 (2006) 細菌の被食過程, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 127-144
- 中野 伸一 (2012) より多様化する微生物食物網の研究, 「淡水生物学のフロンティア (日本生態学会編)」, 共立出版, 東京, pp 142-152
- 西田 修三, 入江 政安, 中辻 啓二 (2006) 大阪湾奥部沿岸域における懸濁態物質の挙動と底泥特性. 海岸工学論文集 53: 991-995

- 浜崎 恒二 (2006) 細菌群集の現存量, 生産量および群集組成, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 103-126
- 林 雅弘, 松本 竜一 (2001) ラビリントラ類の水産飼料への応用. 海洋と生物 132: 57-61
- 林 雅弘, 松本 竜一, 吉松 隆夫, 田中 悟広, 清水 晶 (2002) ドコサヘキサエン酸高蓄積性ラビリントラ類の分離と栄養強化飼料としての利用. 日本水産学会誌 68: 674-678
- 原 成光 (2006) 単細胞生物の死滅要因としてのウイルス, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 145-161
- 星加 章, 谷本 照己, 三島 康史 (1998) 大阪湾における富栄養化と内部生産有機物. 水環境学会誌 21: 765-771
- 本多 大輔 (2001) ラビリントラ類の系統と分類. 海洋と生物 132: 7-18
- 満谷 淳 (2005) 海洋生態系における微生物の役割, 「海の環境微生物学 (石田祐三郎, 杉田治男編)」, 恒星社厚生閣, 東京, pp 47-61
- 山下 洋平, 山田 奈海葉, 田上 英一郎 (2006) 海洋における有機物の代謝 -生物体有機物から非生物態有機物へ, 「海洋生物の連鎖 (木暮一啓編)」, 東海大学出版会, 東京, pp 266-281
- 横川 太一 (2011) 細菌群集が支える海洋物質循環, 「微生物の生態学 (日本生態学会編)」, 共立出版, 東京, pp 206-221
- 「MEGA 5.2.2」, <<http://www.megasoftware.net/>> (参照日: 2014.12.17)
- 「TreeBASE」, <<http://treebase.org/>> (参照日: 2014.12.17)
- 「過去の気象データ検索, 気象庁」, <<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>> (参照日: 2014.12.17)
- 「夙川水系河川整備基本方針, 兵庫県」, <<https://web.pref.hyogo.lg.jp/wd15/documents/106shuku.pdf>> (参照日: 2014.12.17)

「植物防疫法施行規則別表一の第一の二の項及び第二の二の項の規定に基づき，農林水産大臣が指定する有害動物及び有害植物を指定する件」，

<http://www.pps.go.jp/law_active/Notification/basis/5/245/html/245.html#t2>

(参照日：2015.1.13)

「瀬戸内海の環境情報」，

<http://www.env.go.jp/water/heisa/heisa_net/setouchiNet/seto/kankyojoho/index.html>

(参照日：2014.12.17)

「淀川水系河川整備計画，国土交通省」，

<http://www.mlit.go.jp/river/basic_info/jigyo_keikaku/gaiyou/seibi/pdf/yodogawa60-1.pdf>

(参照日：2014.12.17)

图表

表1 これまでに報告された、松花粉MPN法やアクリフラビン直接計数法によるヤブレットボカビ類の細胞密度

Detection	Habitat	Sampling site	Maximum number	Minimum number	Average number	Reference
MPN method	Water	Southern North Sea	600 l ⁻¹	32 l ⁻¹	-	Gaertner (1967)
		North Sea and the Norwegian Sea	192 l ⁻¹ , 256 l ⁻¹	10 l ⁻¹	-	Gaertner (1974)
		Atlantic Ocean off Portugal	488 fungi l ⁻¹	1 fungi l ⁻¹	-	Gaertner (1982)
		Antarctic Ocean	> 100 propagules l ⁻¹	< 5 propagules l ⁻¹	-	Bahuweg & Sparrow (1974a,b)
		Sargasso Sea	115 l ⁻¹	ca. 5 l ⁻¹	-	Ulken (1979)
		Fladen Ground Area, North Sea	384 fungi l ⁻¹	0 fungi l ⁻¹	-	Gaertner & Raghukumar (1980)
		Fladen Ground Area, North Sea	320 fungi l ⁻¹	1 fungi l ⁻¹	-	Raghukumar & Gaertner (1980)
		Arabian Sea	1.10 × 10 ⁴ l ⁻¹	< 1 l ⁻¹	-	Raghukumar (1985)
		Arabian Sea	> 1.10 × 10 ³ l ⁻¹	< 6 l ⁻¹	-	Raghukumar et al. (1990)
		Mouth of the Zuari estuary in Goa, India	348 l ⁻¹	14 l ⁻¹	-	Raghukumar et al. (1990)
		Arabian Sea	1.00 × 10 ³ l ⁻¹	0 l ⁻¹	-	Raghukumar et al. (2001)
		Ligurian Sea (NW Mediterranean)	-	-	1.3 ± 1 × 10 ² cells l ⁻¹	Bongiorni & Dini (2002)
		Sediment or sand	Southern North Sea	1.85 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	1.02 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	-
	Atlantic Ocean off Portugal		4.38 × 10 ⁴ fungi l ⁻¹	-	-	Gaertner (1982)
	Low tide the Jade Bight, Germany		4.56 × 10 ⁴ l ⁻¹	4.70 × 10 ³ l ⁻¹	-	Ulken (1983)
	Red Sea coast of Egypt		6.57 × 10 ⁴ infective units l ⁻¹	2.28 × 10 ⁴ infective units l ⁻¹	-	Ulken (1986)
	Port Klang, Malaysia		4.57 × 10 ⁴ l ⁻¹	9.13 × 10 ³ l ⁻¹	-	Ulken (1986)
	Fladen Ground Area, North Sea		7.31 × 10 ⁴ fungi l ⁻¹	0 fungi l ⁻¹	-	Gaertner & Raghukumar (1980)
	Fladen Ground Area, North Sea		7.30 × 10 ⁴ fungi l ⁻¹	1.46 × 10 ⁴ fungi l ⁻¹	-	Raghukumar & Gaertner (1980)
	AIDD method	Water	Ligurian Sea (NW Mediterranean)	-	-	4.4 ± 4.0 × 10 ⁴ cells l ⁻¹
Ligurian Sea (NW Mediterranean)			-	-	6.1 ± 5.3 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	Bongiorni & Dini (2002)
Ligurian Sea (NW Mediterranean)			-	-	4.4 ± 4.0 × 10 ⁴ l ⁻¹	Bongiorni & Dini (2004)
Ligurian Sea (NW Mediterranean)			-	-	6.1 ± 5.3 × 10 ⁴ l ⁻¹	Bongiorni & Dini (2004)
Arabian Sea			1.31 × 10 ⁶ cells l ⁻¹	0 cells l ⁻¹	-	Raghukumar et al. (2001)
Northern Arabian Sea			1.31 × 10 ⁶ cells l ⁻¹	ND	-	Ramaiah et al. (2005)
Equatorial Indian Ocean			6.75 × 10 ⁵ cells l ⁻¹	-	-	Damare & Raghukumar (2008)
Seto Inland Sea, Japan			5.6 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	2.1 × 10 ³ cells l ⁻¹	1.03 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	Naganuma et al. (1998)
Seto Inland Sea and Hyuga Nada area, Japan			4.52 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	2.50 × 10 ³ cells l ⁻¹	1.59 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	Kimura et al. (1999)
Seto Inland Sea and Hyuga Nada area, Japan			2.14 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	86 cells l ⁻¹	3.11 × 10 ³ cells l ⁻¹	Kimura et al. (2001)
Offshore area of the Shimanto River		3.6 × 10 ³ cells l ⁻¹	900 cells l ⁻¹	2.5 × 10 ³ cells l ⁻¹	Kimura & Naganuma (2001)	
Greenland and Norwegian Seas		2.3 × 10 ³ cells l ⁻¹	< 810 cells l ⁻¹	3.1 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	Naganuma et al. (2006)	
Detritus		Hawaii Ocean	6.30 × 10 ⁵ cells l ⁻¹	undetectable	-	Li et al. (2013)
	North Sea	5.4 × 10 ⁶ cells g ⁻¹	1.0 × 10 ⁵ cells g ⁻¹	-	Raghukumar & Schaumann (1993)	
	Northern Arabian Sea	-	-	6.58 × 10 ⁶ cells g ⁻¹	Raghukumar & Raghukumar (1999)	
Faecal pelet	Sand	Mediterranean sandy shore, Italy	1.70 × 10 ³ cells l ⁻¹	1.0 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	4.24 ± 3.52 × 10 ⁴ cells l ⁻¹	Santangelo et al. (2000)
		Eastern Ligurian Sea (NW Mediterranean)	-	-	4.23 ± 0.29 × 10 ⁴ l ⁻¹	Bongiorni et al. (2004)
Sediment						
Seagrass		Fish-farm in the Bay of Pachino, Italy	1.35 × 10 ⁴ cells g ⁻¹	710 cells g ⁻¹	-	Bongiorni et al. (2005b)

表2 基質上に生育や寄生が確認されたラビリントモイセス類に関する報告

Host	Host (in Japanese)	Labyrinthulomycetes	Reference
Eelgrass <i>Zostera marina</i>	海草 アマモ	<i>Labyrinthula</i> sp.	Pokorny (1967)
Sea grass <i>Halophila engelmannii</i>	海草 ウミヒルモ	<i>Aplanochytrium saliens</i>	Quick (1974a)
Eelgrass <i>Zostera marina</i>	海草 アマモ	<i>Labyrinthula</i> sp.	Muehlstein et al. (1988)
Eelgrass <i>Zostera marina</i>	海草 アマモ	<i>Labyrinthula zosterae</i>	Short et al. (1993)
Eleven different species of seagrasses	海草	<i>Labyrinthula</i> spp.	Vergeer & den Hartog (1994)
Eelgrass <i>Zostera marina</i>	海草 アマモ	<i>Labyrinthula zosterae</i>	Ralph & Short (2002)
Green alga <i>Ulva lactuca</i> , other algae	緑藻 アオサ	<i>Aplanochytrium minutum</i>	Watson & Raper (1957)
Sea grass <i>Halodule wrightii</i>	緑藻 ウミジグサ	<i>Aplanochytrium schizochytrids</i>	Quick (1974b)
Brown alga <i>Sargassum</i> sp.	褐藻 ホンダワラ	<i>Aplanochytrium kerguelensis</i>	Ulken et al. (1985)
Green algae <i>Chaetomorpha media</i> , <i>Cladophora</i> sp., <i>Rhizoclonium</i> sp.; brown alga <i>Lobophora variegata</i> ; red alga <i>Laurencia</i> sp.,	緑藻 シオグサ; 褐藻 アミジグサ; 紅藻 ソゾ	<i>Labyrinthula</i> sp.	Raghukumar (1987)
Brown alga <i>Fucus serratus</i>	褐藻 ヒバマタ	Thraustochytrid	Miller & Jones (1983)
Green algae <i>Cladophora</i> , <i>Rhizoclonium</i>	緑藻 シオグサ	<i>Labyrinthula</i> sp.	Raghukumar (1986a) Ramaiah (2006)
Red alga <i>Gelidium pusillum</i> ; brown algae <i>Sargassum cinereum</i> , <i>Padina tetrastomatica</i>	紅藻 テングサ; 褐藻 ホンダワラ, ウミウチワ	<i>Schizochytrium</i> sp., <i>Aplanochytrium minutum</i>	Raghukumar et al. (1992)
Brown alga <i>Sargassum cinereum</i>	褐藻 ホンダワラ	<i>Aplanochytrium minutum</i>	Sathe-Pathak et al. (1993)
Brown alga <i>Sargassum cinereum</i>	褐藻 ホンダワラ	<i>Ulkenia visuragensis</i> , <i>Aplanochytrium minutum</i>	Sharma et al. (1994)
Cyanobacteria <i>Lyngbya</i> sp.	シアノバクテリア	<i>Labyrinthula</i> sp.	Raghukumar (1987)
Diatom <i>Thalassionema nitzschioides</i>	珪藻	<i>Schizochytrium</i> sp.	Gaertner (1979)
Diatom <i>Coscinodiscus</i> sp., <i>Navicula</i> sp., <i>Nitzschia</i> sp., <i>Grammatophora</i> sp., <i>Melosira</i> sp.	珪藻	<i>Ulkenia visuragensis</i>	Raghukumar (1986b)
Leaves of the mangrove <i>Rhizophora apiculata</i> Blume	マングローブ葉 フタバナヒルギ	<i>Aurantiochytrium mangrovei</i>	Raghukumar et al. (1994)
Fallen decaying leaves <i>Kandelia candel</i>	マングローブ葉 メヒルギ	thraustochytrids	Wong et al. (2005)
Mangrove leaf litter	マングローブ葉	<i>Schizochytrium aggregatum</i>	Bremer (1995)
Zooplankton (copepods)	カイアシ	<i>Aplanochytrium kerguelensis</i>	Damare & Raghukumar (2010)
Octopus <i>Eledone cirrhosa</i>	タコ	Thraustochytrid, Labyrinthulid	Polglase (1980)
<i>Macrostomum lignano</i> (Rhabditophora, Macrostromorpha)	扁形動物	<i>Thraustochytrium caudivorum</i>	Schärer et al. (2007)
Quahaugs <i>Mercenaria mercenaria</i>	ホンビノスガイ	QPX (Quahaug Parasite X)	Whyte et al. (1994)
Clam <i>Ruditapes decussatus</i>	ハマグリ	Thraustochytrid	Azevedo & Corral (1997)
Hard clams <i>Mercenaria mercenaria</i>	ホンビノスガイ	QPX (Quahaug Parasite X)	Calvo et al. (1998)
Tunicate <i>Pegea confoederata</i> (salp)	尾索動物	Thraustochytrid	Raghukumar & Raghukumar (1999)
Massive coral <i>Favia</i> sp.	サンゴ	<i>Aplanochytrium</i> sp., <i>Thraustochytrium</i> sp., <i>Labyrinthuloides</i> sp.	Siboni et al. (2010)
Turf grass	芝	<i>Labyrinthula terrestris</i>	Bigelow et al. (2005)

表3 d-GPY培地の組成

薬品名, メーカー, 品番, それぞれの分量を示した。抗生物質は2009年12月2日の調査分までは, クロラムフェニコールをオートクレーブ前に添加して使用した。2009年12月28日の調査以降は, アンピシリンナトリウム塩とストレプトマイシン硫酸塩を培地のオートクレーブ後に添加した。

薬品名	メーカー	品番	容量	濃度
D-(+)-glucose	nacalai tesque	16806-25	2.0 g	0.20%
Polypepton	大五栄養化学株式会社 (現: 日本製薬株式会社)		1.0 g	0.10%
Yeast Extract	nacalai tesque	15838-45	0.5 g	0.05%
(Agar)	nacalai tesque	01028-85	15.0 g	1.50%
Sea water	淡路島北淡町海岸から 採水, 4°C保存		500 ml	50%
Distilled water			500 ml	50%
Chloramphenicol (2009年12月2日まで)	nacalai tesque	08027-72	0.2 g	0.02%
----- 121°C 20min autoclaving ----- Add to medium after autoclaving				
Ampicillin sodium salt (2009年12月28日以降)	SIGMA-ALDRICH	A-9518	5 ml	20mg ml ⁻¹ in milli-Q final: 100 µg ml ⁻¹
Streptomycin sulfate (2009年12月28日以降)	nacalai tesque	32237-14	5 ml	20mg ml ⁻¹ in milli-Q final: 100 µg ml ⁻¹

表4 本研究で分離し, 18S rRNA遺伝子のほぼ全長を決定し, 系統解析に使用した代表株のリスト

Taxon	NBRC number	Strain number	Original number	Accession number	Sampling date	Sampling site
Genus <i>Aurantiochytrium</i>						
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 2	NBRC 110806	SEK 605	08-047-01yD1	AB973502	May 1, 2008	Shukugawa River
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 2	NBRC 110807	SEK 634	236-03m	AB973503	October 19, 2009	Shukugawa River
<i>Aurantiochytrium</i> sp. 2	NBRC 110808	SEK 635	415-05m	AB973504	June 8, 2011	Shukugawa River
Genus <i>Botryochytrium</i>						
<i>Botryochytrium</i> sp.	NBRC 110809	SEK 597	08-091-04y	AB973505	August 6, 2008	Shukugawa River
<i>Botryochytrium</i> sp.	NBRC 110810	SEK 673	350-05m	AB973506	August 17, 2010	Shukugawa River
<i>Botryochytrium</i> sp.	NBRC 110811	SEK 598	465-01m	AB973507	September 2, 2012	Shukugawa River
Genus <i>Parietichytrium</i>						
<i>Parietichytrium</i> sp.	NBRC 110812	SEK 592	461-01m	AB973508	August 3, 2012	Shukugawa River
Genus <i>Schizochytrium</i>						
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 110813	SEK 577	195-02m1	AB973509	June 17, 2009	Shukugawa River
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 110814	SEK 579	204-06m	AB973510	July 14, 2009	Shukugawa River
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 110815	SEK 582	350-07m	AB973511	August 17, 2010	Shukugawa River
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 110816	SEK 674	1207-8S-05m	AB973512	July 2, 2012	Osaka Bay
Genus <i>Sicyoidochytrium</i>						
<i>Sicyoidochytrium</i> sp.	-	SEK 675	216-05m	AB973513	August 14, 2009	Shukugawa River
<i>Sicyoidochytrium</i> sp.	NBRC 110818	SEK 676	458-10m	AB973514	July 1, 2012	Shukugawa River
Genus <i>Thraustochytrium</i>						
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>aggregatum</i>	NBRC 110819	SEK 619	281-06m1	AB973515	April 8, 2010	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>aureum</i>	NBRC 110820	SEK 621	415-02m	AB973516	June 8, 2011	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>aureum</i>	-	SEK 677	415-08m	AB973517	June 8, 2011	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>caudivorum</i>	NBRC 110822	SEK 616	204-11m	AB973518	July 14, 2009	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>caudivorum</i>	NBRC 110823	SEK 678	216-06m	AB973519	August 14, 2009	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>caudivorum</i>	NBRC 110824	SEK 679	1209-15B-05m	AB973520	September 3, 2012	Osaka Bay
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>kinnei</i>	NBRC 110825	SEK 617	256-05m	AB973521	December 28, 2009	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>kinnei</i>	NBRC 110826	SEK 618	261-01m	AB973522	January 19, 2010	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>kinnei</i>	NBRC 110827	SEK 680	1104-8B-05m	AB973523	April 5, 2011	Osaka Bay
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>pachydermum</i>	-	SEK 681	281-12m	AB973524	April 8, 2010	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>pachydermum</i>	-	SEK 682	394-08m	AB973525	April 20, 2011	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>striatum</i>	NBRC 110828	SEK 686	525-01m	AB973526	June 12, 2013	Shukugawa River
<i>Thraustochytrium</i> aff. <i>striatum</i>	NBRC 110829	SEK 687	1107-15S-03m	AB973527	July 5, 2011	Osaka Bay
Genus <i>Ulkenia</i>						
<i>Ulkenia</i> sp.	NBRC 110830	SEK 615	175-01m2	AB973528	May 12, 2009	Shukugawa River
<i>Ulkenia</i> sp.	NBRC 110831	SEK 688	190-07m	AB973529	June 11, 2009	Shukugawa River
<i>Ulkenia</i> sp.	NBRC 110832	SEK 689	1106-8S-01m	AB973530	June 6, 2011	Osaka Bay
Genus <i>Oblongichytrium</i>						
<i>Oblongichytrium</i> sp. 1	NBRC 110833	SEK 600	298-06m	AB973531	May 6, 2010	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 1	NBRC 110834	SEK 707	401-03m	AB973532	May 17, 2011	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 1	NBRC 110835	SEK 708	458-04m	AB973533	July 1, 2012	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 1	NBRC 110836	SEK 709	369-01m	AB973534	November 2, 2010	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 1	NBRC 110837	SEK 710	1110-15S-01m	AB973535	October 4, 2011	Osaka Bay
<i>Oblongichytrium</i> sp. 2	NBRC 110838	SEK 711	276-05m	AB973536	March 24, 2010	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 2	NBRC 110839	SEK 712	1109-8B-02m	AB973537	September 6, 2011	Osaka Bay
<i>Oblongichytrium</i> sp. 2	NBRC 110840	SEK 713	1207-15S-02m	AB973538	July 2, 2012	Osaka Bay
<i>Oblongichytrium</i> sp. 3	NBRC 110841	SEK 599	256-09m	AB973539	December 28, 2009	Shukugawa River
<i>Oblongichytrium</i> sp. 3	NBRC 110842	SEK 714	1103-15B-05m	AB973540	March 7, 2011	Osaka Bay
<i>Oblongichytrium</i> sp. 3	-	SEK 715	1103-15S-01m	AB973541	March 7, 2011	Osaka Bay
<i>Oblongichytrium</i> sp. 4	NBRC 110843	SEK 716	476-01m	AB973542	November 7, 2012	Shukugawa River
Genus <i>Aplanochytrium</i>						
<i>Aplanochytrium</i> sp.	NBRC 110844	SEK 603	465-05m	AB973543	September 2, 2012	Shukugawa River
<i>Aplanochytrium</i> sp.	-	SEK 717	1110-8S-01m	AB973544	October 4, 2011	Osaka Bay
unidentified taxon						
unidentified thraustochytrid 1	NBRC 110845	SEK 690	08-025-02y	AB973545	March 14, 2008	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 1	NBRC 110846	SEK 691	155-02m	AB973546	March 17, 2009	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 1	-	SEK 692	288-02m	AB973547	April 22, 2010	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 2a	NBRC 110847	SEK 693	298-27mb	AB973548	May 6, 2010	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 2a	NBRC 110848	SEK 694	310-08m	AB973549	May 25, 2010	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 2a	NBRC 110849	SEK 695	1206-15S-05m	AB973550	June 4, 2012	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 2b	NBRC 110850	SEK 696	350-03m	AB973551	August 17, 2010	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 2b	NBRC 110851	SEK 697	461-05m	AB973552	August 3, 2012	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 2b	NBRC 110852	SEK 698	1108-15S-03m	AB973553	August 1, 2011	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 3a	NBRC 110853	SEK 699	08-053-04y1	AB973554	May 14, 2008	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 3b	NBRC 110854	SEK 700	1105-8S-02m	AB973555	May 11, 2011	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 3b	NBRC 110855	SEK 701	1201-8S-05m	AB973556	January 5, 2012	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 3b	NBRC 110856	SEK 702	1107-15S-04m	AB973557	July 5, 2011	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 3c	NBRC 110857	SEK 703	1101-15S-01m	AB973558	January 4, 2011	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 4	-	SEK 706	387-01m	AB973559	March 10, 2011	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 5	NBRC 110858	SEK 704	1210-15S-05m	AB973560	October 2, 2012	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 6	NBRC 110859	SEK 705	1210-8S-01m	AB973561	October 2, 2012	Osaka Bay
unidentified thraustochytrid 7	NBRC 110860	SEK 683	180-08m	AB973562	May 27, 2009	Shukugawa River
unidentified thraustochytrid 7	NBRC 110861	SEK 684	185-02m	AB973563	June 4, 2009	Shukugawa River

NBRC: NITE (National Institute of Technology and Evaluation)-Biological Resource Center (Japan); SEK: Laboratory of Systematics and Evolution at Konan University (Japan)

表5 系統解析に使用した、株や環境DNA配列の株番号やアクセッション番号のリスト

Taxon	Strain / DNA clone	Accession number	Reference
Genus <i>Aurantiochytrium limacinum</i>			
<i>Aurantiochytrium limacinum</i>	ATCC MYA-1381 ^T (NIBH SR21)	AB973564	Honda et al. (1999)
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	RCC 893	AB973565	Tsui et al. (2009)
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	mh0186	AB362211	Taoka et al. (2009)
Genus <i>Aurantiochytrium</i> sp. 1			
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	SEK 217 (RT0100P1)	AB290572	Yokoyama and Honda (2007)
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	SEK 218 (RT0040)	AB290573	Yokoyama and Honda (2007)
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	BURABG 162	DQ100295	-
Genus <i>Aurantiochytrium</i> sp. 2			
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	N1-27	AB073308	Huang et al. (2003)
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	NBRC 102614 (SEK 209)	AB290574	Yokoyama and Honda (2007)
Genus <i>Botryochytrium</i>			
<i>Botryochytrium radiatum</i>	SEK 353 (RT0304)	AB355410	Yokoyama et al. (2007)
<i>Botryochytrium radiatum</i>	#16 (Raghukumar)	AB022115	Honda et al. (1999)
Genus <i>Parietichytrium</i>			
<i>Parietichytrium sarkarianum</i>	SEK 351 (RT0301)	AB355411	Yokoyama et al. (2007)
<i>Parietichytrium sarkarianum</i>	SEK 364 (RT0049)	AB244715	Yokoyama et al. (2007)
<i>Parietichytrium</i> sp.	H1-14	AB073305	Huang et al. (2003)
Genus <i>Schizochytrium</i>			
<i>Schizochytrium aggregatum</i>	ATCC 28209	AB022106	Honda et al. (1999)
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 102615 (SEK 210)	AB290576	Yokoyama and Honda (2007)
<i>Schizochytrium</i> sp.	NBRC 102617 (SEK 346)	AB290578	Yokoyama and Honda (2007)
Genus <i>Sicyoidochytrium</i>			
<i>Sicyoidochytrium minutum</i>	NBRC 102975 (MBIC 11071)	AB290585	Yokoyama et al. (2007)
<i>Sicyoidochytrium</i> sp.	NBRC 102979 (MBIC 11077)	AB183659	Yokoyama et al. (2007)
Genus <i>Thraustochytrium</i>			
<i>Thraustochytrium aggregatum</i>	KMPB N-BA-110 ^T	AB022109	Honda et al. (1999)
<i>Thraustochytrium aureum</i>	ATCC 34304 ^T	AB022110	Honda et al. (1999)
<i>Thraustochytrium caudivorum</i>	ATCC PRA-210 ^T (S4)	EF114348	Schäerer et al. (2007)
<i>Thraustochytrium gaertnerium</i>	ATCC PRA-148 ^T (NIOS-6)	AY705753	Bongiorni et al. (2005a)
<i>Thraustochytrium kinnei</i>	KMPB 1694d	L34668	Cavalier-Smith et al. (1994)
<i>Thraustochytrium pachydermum</i>	KMPB N-BA-114	AB022113	Honda et al. (1999)
<i>Thraustochytrium roseum</i>	ATCC 28210	AB973566	Goldstein (1963)
<i>Thraustochytrium striatum</i>	ATCC 24473 ^T	AB022112	Honda et al. (1999)
Genus <i>Ulkenia</i>			
<i>Ulkenia amoeboides</i>	SEK 214 (RT0167)	AB290355	Takao et al. (2007)
<i>Ulkenia profunda</i>	KMPB N 3077a ^T	L34054	Cavalier-Smith et al. (1994)
<i>Ulkenia profunda</i>	BUTRBG 111	DQ023615	-
<i>Ulkenia visurgensis</i>	ATCC 28208 ^T	AB022116	Honda et al. (1999)
Genus <i>Oblongichytrium</i> 1			
<i>Oblongichytrium minutum</i>	KMPB N-BA-77 ^T	AB022108	Honda et al. (1999)
Genus <i>Oblongichytrium</i> 2			
<i>Oblongichytrium multirudimentale</i>	KMPB N-BA-113	AB022111	Honda et al. (1999)
<i>Oblongichytrium</i> sp.	PBS05	FJ799794	Collado-Mercado et al. (2010)
Genus <i>Oblongichytrium</i> 3			
<i>Oblongichytrium</i> sp.	BAFC cult. 3519	HQ228948	-
Genus <i>Oblongichytrium</i> 4			
<i>Oblongichytrium</i> sp.	NBRC 102618 (SEK 347)	AB290575	Yokoyama and Honda (2007)
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	KB9/KB16	JX481078	-
Genus <i>Oblongichytrium</i> 5			
<i>Oblongichytrium</i> sp.	PBS02	FJ799796	Collado-Mercado et al. (2010)
<i>Oblongichytrium</i> sp.	PBS03	GQ354272	Collado-Mercado et al. (2010)
Genus <i>Aplanochytrium</i>			
<i>Aplanochytrium kerguelense</i>	KMPB N-BA-107	AB022103	Honda et al. (1999)
<i>Aplanochytrium minutum</i>	n/a	L27634	Leipe et al. (1994)
<i>Aplanochytrium stocchini</i>	n/a	AJ519935	Moro et al. (2003)
Genus <i>Labyrinthula</i>			
<i>Labyrinthula</i> sp.	NBRC 33215 (AN-1565)	AB022105	Honda et al. (1999)
<i>Labyrinthula</i> sp.	L59	AB095092	Kumon et al. (2003)
<i>Labyrinthula</i> sp.	L72	AB220158	Kumon et al. (2006)
<i>Labyrinthula</i> sp.	N8	AB246794	Tsui et al. (2009)
unclassified labyrinthulomycetes			
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	C9G	AF474172	Anderson et al. (2003)
Labyrinthulid quahog parasite QPX	QPX	AY052644	Stokes et al. (2002)
unidentified thraustochytrid 2b			
<i>Thraustochytrium</i> sp.	AR2-19 clone1	AB10952	Nakazawa et al. (2014)
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	M4-103	AB073307	Huang et al. (2003)
unidentified thraustochytrid 3a			
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	BAFC cult. 3537	HQ228987	-
<i>Thraustochytrium</i> sp.	HK8a	FJ821495	Yang et al. (2010)
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	#32	DQ367052	Tsui et al. (2009)
unidentified thraustochytrid 3b			
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	BAFC cult. 3545	HQ228949	-
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	JC3	KF718864	-
<i>Thraustochytriidae</i> sp.	H41	DQ459556	-
unidentified thraustochytrid 5			
<i>Thraustochytrium</i> sp.	AR2-1	AB810959	Nakazawa et al. (2014)
unidentified thraustochytrid 6			
<i>Thraustochytrium</i> sp.	HK5	FJ821499	Yang et al. (2010)
Outgroup			
<i>Bacillaria paxillifer</i>	n/a	M87325	-
<i>Ochromonas danica</i>	n/a	M32704, J02950	Gunderson et al. (1987)

ATCC: American Type Culture Collection; KMPB: Kultursammlung Mariner Pilze Bremerhaven, Alfred-Wegener-Institut für Polar und Meeresforschung (Germany); NBRC: NITE (National Institute of Technology and Evaluation)–Biological Resource Center (Japan); NIBH: National Institute of Bioscience and Human Technology (Japan); SEK: Laboratory of Systematics and Evolution at Konan University (Japan); T: ex-type strain; n/a: not available.

表6 夙川河口, 六甲アイランド南岸, 大阪湾における, ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の細胞密度と炭素量バイオマス, 水温, 塩分, クロロフィル α 濃度, 浮遊性細菌に対するヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの割合のまとめ

	Environmental data			Thraustochytrids		Bacterioplankton		Ratio of thraustochytrid to bacterioplankton C biomass (%)		
	Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chlorophyll α ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Density (cells l^{-1})	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Density ($\times 10^8$ cells l^{-1})	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)			
The Shukugawa River mouth	Average (including spikes)	19.3	22.9	13.68	13,729	2.27	20.34	61.44	3.60	
	Average (excluding spikes)	18.8	23.1	13.45	4,670	0.77	19.50	58.90	1.59	
	Min (including spikes)	6.3	3.9	1.28	40	0.01	2.86	8.63	0.04	
	Max (including spikes)	30.9	31.6	202.50	266,400	43.96	107.52	324.72	79.57	
	Max (excluding spikes)	30.5	31.6	202.50	26,640	4.40	107.52	324.72	12.19	
	47; May 1, 2008	20.9	21.2	10.41	266,400	43.96	36.33	109.73	40.06	
	85; July 24, 2008	30.5	21.0	46.36	47,470	7.83	55.95	168.96	4.64	
	298; May 6, 2010	21.4	12.1	9.02	103,600	17.09	17.68	53.41	32.01	
	350; Aug. 17, 2010	30.6	13.6	15.49	103,600	17.09	50.64	152.94	11.18	
	455; June 6, 2012	21.7	27.7	16.43	47,470	7.83	19.18	57.94	13.52	
	458; July 1, 2012	23.7	24.0	9.69	103,600	17.09	20.61	62.25	27.46	
537; Aug. 19, 2013	30.9	24.4	9.51	266,400	43.96	18.29	55.24	79.57		
Rokko Island	Average	19.3	25.5	9.24	1,061	0.17	-	-	-	
	Min	8.0	8.8	1.03	0	0	-	-	-	
	Max	29.7	31.5	40.39	10,360	1.71	-	-	-	
Osaka Bay	Sta. 8S	8S Average	17.7	30.9	2.35	122	0.02	4.96	14.99	0.22
		8S Min	8.7	22.2	-3.93	0	0.00	1.05	3.18	0.00
		8S Max	28.0	32.4	16.82	475	0.08	20.72	62.58	1.38
	Sta. 8B	8B Average	17.5	32.1	-2.15	47	0.01	4.05	12.23	0.07
		8B Min	8.5	31.5	-3.84	0	0.00	0.50	1.51	0.00
		8B Max	27.3	32.6	0.08	475	0.08	14.86	44.88	0.42
	Sta. 15S	15S Average	18.0	28.1	11.43	509	0.08	9.64	29.13	0.27
		15S Min	8.0	20.4	-8.84	0	0.00	0.61	1.83	0.00
		15S Max	29.0	30.8	61.10	4,747	0.78	31.40	94.84	1.23
	Sta. 15B	15B Average	17.1	32.0	-0.72	45	0.01	4.64	14.01	0.07
		15B Min	8.5	31.4	-3.43	0	0.00	0.57	1.73	0.00
		15B Max	27.2	32.5	7.20	266	0.04	17.26	52.11	0.52

表7 夙川河口におけるサンプリングデータ (1/6)

Compact-CTDによって測定した、水温、塩分、クロロフィルa濃度、濁度の環境データ、POC、PON、DOC、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の細胞密度、生物量、炭素量と窒素量バイオマス、浮遊性細菌に対するヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの割合、系統群ごとの分離株数を示した。ヤブレッツボカビ類の細胞密度は松花粉MPN法によって測定し、95%の信頼限界によって上限と下限を求めた。ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の生物量は、それぞれ、 $524 \mu\text{m}^3 \text{cell}^{-1}$ 、 $0.1 \mu\text{m}^3 \text{cell}^{-1}$ を用いて計算した (Naganuma et al. 1998, Naganuma & Miura 1997)。ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の炭素量と窒素量バイオマスは、それぞれ、 $1.65 \times 10^{-4} \mu\text{g C cell}^{-1}$ と $1.58 \times 10^{-5} \mu\text{g N cell}^{-1}$ 、 $30.2 \text{ fg C cell}^{-1}$ と $5.8 \text{ fg N cell}^{-1}$ を用いて計算した (Kimura et al. 1999, Fukuda et al. 1998)。Ob1の系統群は、系統樹上で2つのグループに分かれたため、Ob1a (SEK 600, 707, 708 を含むグループ)とOb1b (SEK 709, 710 を含むグループ)に分けて表記した。Ob3はOb3と同じ系統群に属しているが、配列上に挿入配列を含んでいたグループである。

Sample no.	Date	Environmental data												
		Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chlorophyll (ppb)	Chlorophyll a ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Turbidity (FTU)	Avg. of POC (mg l ⁻¹)	Maximum of POC (mg l ⁻¹)	Minimum of POC (mg l ⁻¹)	Avg. of PON (mg l ⁻¹)	Maximum of PON (mg l ⁻¹)	Minimum of PON (mg l ⁻¹)	Avg. of DOC (mg l ⁻¹)	Maximum of DOC (mg l ⁻¹)
25	March 14, 2008	11.8	26.2	8.65	13.07	4.38								
29	April 2, 2008	15.0	22.0											
34	April 16, 2008	15.1	27.4	5.49	8.29	18.99								
42	April 24, 2008	17.6	15.8	21.06	31.82	19.72								
47	May 1, 2008	20.9	21.2	6.89	10.41	10.67								
53	May 14, 2008	19.6	11.9	2.03	3.07	27.41								
60	May 27, 2008	21.6	17.9	92.51	139.77	9.43								
66	June 10, 2008	21.5	27.1	6.99	10.56	15.25								
72	June 26, 2008	22.6	25.0	15.44	23.33	2.68								
79	July 10, 2008	27.7	18.3	22.18	33.51	5.23								
85	July 24, 2008	30.5	21.0	30.68	46.36	6.74								
91	August 6, 2008	30.5	24.9	3.83	5.78	10.50								
97	August 21, 2008	27.7	27.9	3.09	4.67	5.42								
103	September 4, 2008	26.0	31.6	4.36	6.58	3.69								
109	September 18, 2008	25.9	30.2	11.18	16.89	1.82								
115	October 9, 2008	23.3	27.0	28.47	43.02	3.01								
121	October 30, 2008	21.0	29.9	7.22	10.91	1.47								
127	November 18, 2008	19.1	29.7	6.07	9.17	1.43								
133	December 9, 2008	13.2	26.6	0.99	1.49	0.65								
139	January 6, 2009	9.9	25.7	3.91	5.90	0.99								
145	February 3, 2009	9.0	22.5	1.87	2.82	4.48								
151	March 6, 2009	10.2	28.7	10.95	16.54	1.54								
155	March 17, 2009	11.6	10.1	3.48	5.26	6.62								
160	April 3, 2009	10.5	26.5	1.07	1.61	8.04								
165	April 16, 2009	17.7	27.3	4.46	6.73	1.55								
170	May 2, 2009	18.2	23.5	5.59	8.45	11.19								
175	May 12, 2009	22.3	17.1	14.38	21.73	22.60								
180	May 27, 2009	18.8	29.8	21.55	32.56	14.34								
185	June 4, 2009	21.7	27.8	134.02	202.50	12.91								
190	June 11, 2009	20.8	19.2	5.51	8.33	6.41								
195	June 17, 2009	25.3	25.0	10.02	15.14	11.23								
199	June 30, 2009	25.6	8.5	8.18	12.36	12.24								
204	July 14, 2009	28.6	18.4	5.55	8.38	10.07								
211	July 31, 2009	27.3	28.1	6.94	10.49	6.12								
216	August 14, 2009	27.8	24.4	14.95	22.59	3.97								
221	August 27, 2009	26.1	29.2	11.73	17.72	3.49								
226	September 10, 2009	24.1	28.8	1.50	2.27	10.03								
231	September 30, 2009	24.4	30.9	8.78	13.26	33.47								
236	October 19, 2009	21.9	28.3	1.51	2.29	4.94								
241	November 9, 2009	20.0	28.5	6.54	9.89	1.74								
246	December 2, 2009	17.8	29.9	4.82	7.29	3.17								
256	December 28, 2009	10.7	26.1	1.72	2.60	12.67								
261	January 19, 2010	6.3	26.6	9.19	13.89	11.30								
266	February 9, 2010	9.7	20.6	2.25	3.39	23.79								
271	March 2, 2010	11.0	27.0	2.90	4.39	2.20								
276	March 24, 2010	11.2	22.4	3.33	5.02	2.18								
281	April 8, 2010	11.7	29.8	1.79	2.71	2.36								
286	April 14, 2010	13.8	19.6	1.74	2.63	11.64								
288	April 22, 2010	11.9	30.3	3.06	4.62	1.91								
293	April 29, 2010	15.2	18.9	4.77	7.20	13.52								

表7 つづき (2/6)

Sam- ple no.	Date	Thraustochytrids						Bacterioplankton				Ratio of thra to bac carbon biomass (%)	
		Density (cells l ⁻¹)	Lower of MPN (cells l ⁻¹)	Upper of MPN (cells l ⁻¹)	Biovolume (x10 ⁶ µm ³ l ⁻¹)	Carbon biomass (µg C l ⁻¹)	Nitrogen biomass (µg N l ⁻¹)	Density (x10 ⁶ cells l ⁻¹)	Biovolume (x10 ⁶ µm ³ l ⁻¹)	Carbon biomass (µg C l ⁻¹)	Nitrogen biomass (µg N l ⁻¹)		
25	March 14, 2008	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164						
29	April 2, 2008	26,640	5,285	107,200	139.59	4.396	0.421	59.64	5.96	180.13	34.59	2.44	
34	April 16, 2008	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	23.79	2.38	71.86	13.80	0.11	
42	April 24, 2008	2,271	375	9,244	11.90	0.375	0.036	32.15	3.22	97.10	18.65	0.39	
47	May 1, 2008	266,400	52,850	1,072,000	1395.94	43.956	4.209	36.33	3.63	109.73	21.07	40.06	
53	May 14, 2008	26,640	5,285	107,200	139.59	4.396	0.421	32.48	3.25	98.07	18.84	4.48	
60	May 27, 2008	8,230	1,931	23,890	43.13	1.358	0.130	21.38	2.14	64.57	12.40	2.10	
66	June 10, 2008	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	43.89	4.39	132.55	25.46	0.33	
72	June 26, 2008	4,257	1,016	14,180	22.31	0.702	0.067	23.47	2.35	70.89	13.61	0.99	
79	July 10, 2008	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	31.99	3.20	96.62	18.56	0.81	
85	July 24, 2008	47,470	11,480	153,900	248.74	7.833	0.750	55.95	5.59	168.96	32.45	4.64	
91	August 6, 2008	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	40.51	4.05	122.35	23.50	1.40	
97	August 21, 2008	26,640	5,285	107,200	139.59	4.396	0.421	39.71	3.97	119.92	23.03	3.67	
103	September 4, 2008	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	44.69	4.47	134.97	25.92	1.27	
109	September 18, 2008	3,064	451	11,320	16.06	0.506	0.048	57.23	5.72	172.84	33.20	0.29	
115	October 9, 2008	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	25.08	2.51	75.74	14.55	0.10	
121	October 30, 2008	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	41.32	4.13	124.78	23.96	0.14	
127	November 18, 2008	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	32.00	3.20	96.64	18.56	0.08	
133	December 9, 2008	2,271	375	9,244	11.90	0.375	0.036	16.08	1.61	48.56	9.33	0.77	
139	January 6, 2009	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	5.31	0.53	16.03	3.08	0.27	
145	February 3, 2009	266	28	1,269	1.40	0.044	0.004	3.54	0.35	10.68	2.05	0.41	
151	March 6, 2009	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	6.91	0.69	20.88	4.01	0.21	
155	March 17, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	16.24	1.62	49.05	9.42	0.35	
160	April 3, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	16.72	1.67	50.49	9.70	0.34	
165	April 16, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	20.90	2.09	63.12	12.12	0.27	
170	May 2, 2009	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	79.26	7.93	239.36	45.97	0.33	
175	May 12, 2009	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	34.66	3.47	104.68	20.10	0.75	
180	May 27, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	32.22	3.22	97.30	18.69	0.18	
185	June 4, 2009	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	107.52	10.75	324.72	62.36	0.14	
190	June 11, 2009	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	39.23	3.92	118.47	22.75	1.44	
195	June 17, 2009	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	24.50	2.45	73.99	14.21	1.06	
199	June 30, 2009	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	33.99	3.40	102.64	19.71	1.67	
204	July 14, 2009	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	24.18	2.42	73.02	14.02	0.60	
211	July 31, 2009	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	28.75	2.87	86.81	16.67	0.90	
216	August 14, 2009	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	16.72	1.67	50.50	9.70	0.87	
221	August 27, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	22.19	2.22	67.02	12.87	0.26	
226	September 10, 2009	823	193	2,389	4.31	0.136	0.013	8.30	0.83	25.06	4.81	0.54	
231	September 30, 2009	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	11.64	1.16	35.16	6.75	0.22	
236	October 19, 2009	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	29.46	2.95	88.96	17.09	0.49	
241	November 9, 2009	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	5.60	0.56	16.90	3.25	1.01	
246	December 2, 2009	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	3.02	0.30	9.13	1.75	0.48	
256	December 28, 2009	40	6	137	0.21	0.007	0.001	5.53	0.55	16.71	3.21	0.04	
261	January 19, 2010	163	27	702	0.86	0.027	0.003	4.70	0.47	14.18	2.72	0.19	
266	February 9, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	8.33	0.83	25.15	4.83	1.75	
271	March 2, 2010	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	8.71	0.87	26.32	5.05	0.30	
276	March 24, 2010	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	11.99	1.20	36.22	6.96	0.22	
281	April 8, 2010	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	13.92	1.39	42.05	8.08	0.19	
286	April 14, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	11.74	1.17	35.44	6.81	1.24	
288	April 22, 2010	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	9.77	0.98	29.52	5.67	0.15	
293	April 29, 2010	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	12.86	1.29	38.84	7.46	2.02	

表7 つづき (3/6)

		Number of isolates in each phylogenetic group																																
Sam- ple no.	Date	Number of isolates	Number of isolates in each phylogenetic group													Number of isolates in each phylogenetic group																		
			UT1	UT2 a	UT2 b	Au2	Sc	Ob1 a	Ob1 b	Ob2	Ob3	Ob3i	Ob4	Pa	Bo	Ul	Si	Tc	Tau	Ts	Tk	Tag	Tp	UT7	Ap	UT3 a	UT3 b	UT3 c	UT4	UT5	UT6	La	Sum	
25	March 14, 2008	6	5																															5
29	April 2, 2008																																	0
34	April 16, 2008																																	0
42	April 24, 2008																																	0
47	May 1, 2008	14	1		3													1															5	
53	May 14, 2008	4			3																				1								4	
60	May 27, 2008	8			5																												5	
66	June 10, 2008	8			4																												4	
72	June 26, 2008	31			5																												5	
79	July 10, 2008	21			2	3																											5	
85	July 24, 2008	20			7																												7	
91	August 6, 2008	14			4									1																			5	
97	August 21, 2008	19			5																												5	
103	September 4, 2008	14											5																				5	
109	September 18, 2008	19			5																												5	
115	October 9, 2008																																0	
121	October 30, 2008	19			1	4																											5	
127	November 18, 2008																																	0
133	December 9, 2008	1																					1										1	
139	January 6, 2009																																0	
145	February 3, 2009																																0	
151	March 6, 2009																																0	
155	March 17, 2009	6	6																														6	
160	April 3, 2009	12	5																														5	
165	April 16, 2009																																0	
170	May 2, 2009	1			1																												1	
175	May 12, 2009	14												5																			5	
180	May 27, 2009	8			4																		1										5	
185	June 4, 2009	9																						5									5	
190	June 11, 2009	9												5											5								5	
195	June 17, 2009	6			5																												5	
199	June 30, 2009	10			5																												5	
204	July 14, 2009	11			1	2											1																4	
211	July 31, 2009	6			4																												4	
216	August 14, 2009	10														1	2																3	
221	August 27, 2009	10			5																												5	
226	September 10, 2009	10			5																												5	
231	September 30, 2009	13			5																												5	
236	October 19, 2009	6			3	1																											4	
241	November 9, 2009	10			7																												7	
246	December 2, 2009	0																															0	
256	December 28, 2009	8									2														3								5	
261	January 19, 2010	10									1															3							4	
266	February 9, 2010	12								1		2																					3	
271	March 2, 2010	13									1	2	2																				5	
276	March 24, 2010	11	3								2																						5	
281	April 8, 2010	12								2																	2	1					5	
286	April 14, 2010	12								3	2																						5	
288	April 22, 2010	11	4							1																							5	
293	April 29, 2010	12	1							4																							5	

表7 つづき (4/6)

Sample no.	Date	Environmental data													
		Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chlorophyll (ppb)	Chlorophyll <i>a</i> (µg l ⁻¹)	Turbidity (FTU)	Avg. of POC (mg l ⁻¹)	Maximum of POC (mg l ⁻¹)	Minimum of POC (mg l ⁻¹)	Avg. of PON (mg l ⁻¹)	Maximum of PON (mg l ⁻¹)	Minimum of PON (mg l ⁻¹)	Avg. of DOC (mg l ⁻¹)	Maximum of DOC (mg l ⁻¹)	Minimum of DOC (mg l ⁻¹)
298	May 6, 2010	21.4	12.1	5.97	9.02	6.60									
303	May 13, 2010	14.2	29.3	0.85	1.28	1.26									
310	May 25, 2010	19.5	4.3	1.65	2.49	10.44									
317	June 3, 2010	24.2	23.4	12.87	19.44	18.28									
323	June 17, 2010	24.2	9.8	8.35	12.61	14.39									
329	July 1, 2010	27.7	6.7	21.47	32.43	6.10									
336	July 15, 2010	25.2	3.9	4.95	7.48	7.76									
343	July 29, 2010	26.5	8.0	9.22	13.93	14.10									
350	August 17, 2010	30.6	13.6	10.25	15.49	10.60									
357	September 14, 2010	28.0	24.7	4.84	7.31	15.81									
362	October 11, 2010	23.0	20.1	1.61	2.42	3.06									
369	November 2, 2010	17.5	27.2	3.03	4.58	7.37									
374	December 7, 2010	14.8	28.2	3.66	5.52	5.32	1.13	1.15	1.10	0.22	0.28	0.16			
379	January 6, 2011	7.5	28.6	1.20	1.82	15.23	0.87	0.88	0.87	0.11	0.11	0.11			
384	February 16, 2011	7.0	31.1	3.06	4.62	5.38	0.90	0.93	0.87	0.21	0.37	0.13			
387	March 10, 2011	7.0	17.4	9.85	14.89	13.62	3.54	3.64	3.46	0.61	0.68	0.56			
391	April 7, 2011	13.1	29.9	5.77	8.71	14.18	1.88	1.95	1.83	0.38	0.41	0.36			
394	April 20, 2011	13.9	28.8	6.68	10.09	3.67	2.18	2.25	2.09	0.37	0.41	0.28			
398	May 3, 2011	16.4	23.0	4.55	6.87	7.35	2.84	2.87	2.78	0.50	0.51	0.47			
401	May 17, 2011	20.2	5.8	2.61	3.94	6.10	2.43	3.25	1.79	0.24	0.26	0.21			
415	June 8, 2011	23.4	13.0	3.18	4.80	20.04	1.74	1.80	1.65	0.28	0.30	0.25			
418	July 6, 2011	28.5	18.4	2.11	3.18	2.96	1.58	1.65	1.45	0.21	0.26	0.16			
421	August 4, 2011	28.2	24.9	8.65	13.07	5.85	2.57	2.66	2.44	0.46	0.48	0.42			
424	September 13, 2011	29.5	13.9	12.83	19.38	3.87	2.45	2.58	2.24	0.42	0.45	0.38			
427	October 5, 2011	24.0	29.4	5.11	7.72	21.13	1.50	1.57	1.44	0.24	0.26	0.20			
430	November 9, 2011	22.3	31.4	1.00	1.51	2.89	0.64	0.67	0.61	0.09	0.11	0.08			
433	December 7, 2011	16.5	29.8	1.42	2.15	2.91	0.54	0.58	0.50	0.08	0.10	0.06			
436	January 9, 2012	10.9	30.1	1.09	1.65	1.51	0.52	0.54	0.51	0.08	0.09	0.07			
439	February 7, 2012	9.3	9.7	2.55	3.85	6.81	2.34	2.44	2.20	0.25	0.26	0.24			
442	March 7, 2012	10.8	11.6	4.14	6.26	15.72	1.72	1.84	1.52	0.28	0.36	0.23			
445	April 4, 2012	13.0	16.7	2.56	3.86	12.15	2.72	2.81	2.63	0.30	0.31	0.28	3.28	3.32	3.25
448	April 24, 2012	17.2	22.9	1.22	1.84	2.72									
449	May 2, 2012	15.2	29.0	4.55	6.87	6.60	1.90	1.95	1.84	0.45	0.48	0.42	2.67	2.72	2.64
452	May 16, 2012	20.0	26.9	3.83	5.78	4.09	3.49	3.52	3.45	0.49	0.53	0.44	3.77	3.97	3.59
455	June 6, 2012	21.7	27.7	10.88	16.43	4.88	4.45	4.51	4.40	0.76	0.80	0.71	4.06	4.09	4.04
458	July 1, 2012	23.7	24.0	6.42	9.69	8.06	3.79	3.82	3.76	0.57	0.58	0.56	3.70	3.75	3.62
461	August 3, 2012	28.9	25.8	4.60	6.96	44.30	2.24	2.29	2.19	0.31	0.32	0.31	4.99	5.05	4.93
465	September 2, 2012	29.8	23.3	18.38	27.77	10.99	5.83	5.87	5.78	0.82	0.83	0.81	4.73	4.88	4.56
470	October 3, 2012	24.1	21.6	0.96	1.45	7.55	1.21	1.27	1.15	0.13	0.13	0.12	3.60	6.60	3.54
476	November 7, 2012	20.0	29.6	1.09	1.64	5.78	1.33	1.44	1.27	0.13	0.16	0.12	4.05	4.09	3.97
484	December 5, 2012	12.5	25.6	3.22	4.87	17.81	1.26	1.30	1.21	0.13	0.14	0.13	3.01	3.07	2.96
489	January 9, 2013	9.2	21.3	2.23	3.37	152.27	1.14	1.19	1.11	0.14	0.17	0.11	3.46	3.47	3.45
494	February 6, 2013	8.8	20.9	1.40	2.11	3.26	1.62	1.65	1.59	0.17	0.17	0.17	2.35	2.39	2.30
499	March 6, 2013	10.6	18.5	2.47	3.74	22.26	1.81	1.95	1.68	0.21	0.24	0.16	2.27	2.28	2.26
507	April 5, 2013	13.6	27.9	2.52	3.80	1.97	1.48	1.55	1.40	0.18	0.21	0.14	2.98	3.03	2.92
516	May 8, 2013	17.1	30.1	2.05	3.10	5.58	2.17	2.20	2.15	0.30	0.42	0.09	2.45	2.49	2.40
525	June 12, 2013	21.9	30.2	9.33	14.09	6.48	2.90	3.17	2.63	0.52	0.55	0.50	3.49	3.54	3.45
531	July 3, 2013	25.6	20.2	33.02	49.89	11.33	6.55	6.63	6.50	1.17	1.27	1.09	3.33	3.39	3.26
537	August 19, 2013	30.9	24.4	6.30	9.51	9.11	2.50	2.55	2.43	0.34	0.44	0.16	3.45	3.49	3.42
543	September 19, 2013	25.3	16.4	19.75	29.85	75.20	1.41	1.42	1.39	0.18	0.20	0.17	3.29	3.29	3.28
Avg. (including spikes)		19.3	22.9	9.05	13.68	11.15	2.19			0.33		3.42			
Avg. (excluding spikes)		18.8	23.1	8.90	13.45	11.38	2.07			0.31		3.36			
Max (including spikes)		30.9	31.6	134.02	202.50	152.27	6.55			1.17		4.99			
Max (excluding spikes)		30.5	31.6	134.02	202.50	152.27	6.55			1.17		4.99			
Min (including spikes)		6.3	3.9	0.85	1.28	0.65	0.52			0.08		2.27			
Sum															

表7 つづき (5/6)

Sample no.	Date	Thraustochytrids						Bacterioplankton				Ratio of thra to bac carbon biomass (%)
		Density (cells l ⁻¹)	Lower of MPN (cells l ⁻¹)	Upper of MPN (cells l ⁻¹)	Biovolume (x10 ⁵ μm ³ l ⁻¹)	Carbon biomass (μg C l ⁻¹)	Nitrogen biomass (μg N l ⁻¹)	Density (x10 ⁶ cells l ⁻¹)	Biovolume (x10 ⁶ μm ³ l ⁻¹)	Carbon biomass (μg C l ⁻¹)	Nitrogen biomass (μg N l ⁻¹)	
298	May 6, 2010	103,600	22,950	301,000	542.86	17.094	1.637	17.68	1.77	53.41	10.26	32.01
303	May 13, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	9.07	0.91	27.38	5.26	1.61
310	May 25, 2010	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	7.36	0.74	22.24	4.27	7.69
317	June 3, 2010	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	34.02	3.40	102.74	19.73	1.66
323	June 17, 2010	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	16.21	1.62	48.94	9.40	3.49
329	July 1, 2010	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	27.65	2.77	83.51	16.04	2.05
336	July 15, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	11.74	1.17	35.44	6.81	1.24
343	July 29, 2010	8,230	1,931	23,890	43.13	1.358	0.130	17.75	1.77	53.60	10.29	2.53
350	August 17, 2010	103,600	22,950	301,000	542.86	17.094	1.637	50.64	5.06	152.94	29.37	11.18
357	September 14, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	27.46	2.75	82.93	15.93	0.53
362	October 11, 2010	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	11.35	1.14	34.28	6.58	1.28
369	November 2, 2010	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	19.97	2.00	60.30	11.58	0.28
374	December 7, 2010	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	12.32	1.23	37.20	7.14	0.12
379	January 6, 2011	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	3.31	0.33	10.00	1.92	0.78
384	February 16, 2011	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	3.44	0.34	10.39	2.00	0.42
387	March 10, 2011	4,253	1,016	14,180	22.29	0.702	0.067	9.81	0.98	29.62	5.69	2.37
391	April 7, 2011	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	16.01	1.60	48.36	9.29	0.35
394	April 20, 2011	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	11.09	1.11	33.50	6.43	1.31
398	May 3, 2011	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	9.36	0.94	28.26	5.43	2.77
401	May 17, 2011	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	12.73	1.27	38.45	7.39	4.45
415	June 8, 2011	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	5.97	0.60	18.02	3.46	4.35
418	July 6, 2011	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	14.15	1.41	42.73	8.21	1.83
421	August 4, 2011	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	26.47	2.65	79.95	15.35	0.98
424	September 13, 2011	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	17.76	1.78	53.62	10.30	0.82
427	October 5, 2011	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	6.82	0.68	20.61	3.96	2.13
430	November 9, 2011	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	16.29	1.63	49.20	9.45	0.35
433	December 7, 2011	266	53	1,072	1.40	0.044	0.004	2.86	0.29	8.63	1.66	0.51
436	January 9, 2012	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	3.29	0.33	9.93	1.91	1.72
439	February 7, 2012	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	5.36	0.54	16.18	3.11	10.56
442	March 7, 2012	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	16.51	1.65	49.85	9.57	1.57
445	April 4, 2012	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	12.65	1.26	38.19	7.34	0.45
448	April 24, 2012	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075					
449	May 2, 2012	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	8.65	0.86	26.11	5.01	0.65
452	May 16, 2012	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	11.86	1.19	35.82	6.88	2.19
455	June 6, 2012	47,470	11,480	153,900	248.74	7.833	0.750	19.18	1.92	57.94	11.13	13.52
458	July 1, 2012	103,600	22,950	301,000	542.86	17.094	1.637	20.61	2.06	62.25	11.96	27.46
461	August 3, 2012	26,640	5,285	107,200	139.59	4.396	0.421	30.55	3.05	92.25	17.72	4.76
465	September 2, 2012	26,640	5,285	107,200	139.59	4.396	0.421	33.69	3.37	101.74	19.54	4.32
470	October 3, 2012	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	5.61	0.56	16.94	3.25	2.59
476	November 7, 2012	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	9.25	0.93	27.94	5.37	2.80
484	December 5, 2012	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	7.45	0.74	22.50	4.32	1.95
489	January 9, 2013	1,036	230	3,010	5.43	0.171	0.016	2.89	0.29	8.74	1.68	1.96
494	February 6, 2013	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	4.82	0.48	14.57	2.80	0.54
499	March 6, 2013	475	115	1,539	2.49	0.078	0.008	5.11	0.51	15.43	2.96	0.51
507	April 5, 2013	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	11.25	1.13	33.99	6.53	1.29
516	May 8, 2013	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	2.93	0.29	8.85	1.70	4.97
525	June 12, 2013	4,747	1,148	15,390	24.87	0.783	0.075	20.29	2.03	61.28	11.77	1.28
531	July 3, 2013	10,360	2,295	30,100	54.29	1.709	0.164	4.64	0.46	14.03	2.69	12.19
537	August 19, 2013	266,400	52,850	1,072,000	1395.94	43.956	4.209	18.29	1.83	55.24	10.61	79.57
543	September 19, 2013	2,664	529	10,720	13.96	0.440	0.042	3.36	0.34	10.14	1.95	4.33
Avg. (including spikes)		13,729			71.94	2.265	0.217	20.34	2.03	61.44	11.80	3.60
Avg. (excluding spikes)		4,670			24.47	0.771	0.074	19.50	1.95	58.90	11.31	1.59
Max (including spikes)		266,400			1395.94	43.956	4.209	107.52	10.75	324.72	62.36	79.57
Max (excluding spikes)		26,640			139.59	4.396	0.421	107.52	10.75	324.72	62.36	12.19
Min (including spikes)		40			0.21	0.007	0.001	2.86	0.29	8.63	1.66	0.04
Sum												

表8 夙川河口における、ヤブレッツボカビ類の細胞密度 (Thra), 浮遊性細菌の細胞密度 (Bac), 水温 (Temp), 塩分 (Sali), クロロフィルa濃度 (Chl), 懸濁態有機炭素 (POC), 懸濁態有機窒素 (PON), 溶存態有機炭素 (DOC) 間の相関計数

ヤブレッツボカビ・スパイク時のデータは、データ解析から除外した。

	Thra	Bac	Temp	Sali	Chl	POC	PON	DOC
Thra	1							
Bac	0.357**	1						
Temp	0.373**	0.401**	1					
Sali	-0.296**	0.055	-0.139	1				
Chl	0.060	0.527**	0.208*	-0.032	1			
POC	0.589**	0.399*	0.358*	-0.247	0.762**	1		
PON	0.458**	0.360*	0.334	-0.102	0.798**	0.952**	1	
DOC	0.815**	0.768**	0.747**	0.114	0.220	0.343	0.267	1

*p < 0.05; **p < 0.01

表9 六甲アイランド南岸におけるサンプリングデータ

Compact-CTDによって測定した、水温、塩分、クロロフィル*a*濃度と、透明度、ヤブレットボカビ類の細胞密度、生物量、炭素量と窒素量バイオマスを示した。ヤブレットボカビ類の細胞密度は松花粉MPN法によって測定し、95%の信頼限界によって上限と下限を求めた。ヤブレットボカビ類の生物量は、 $524 \mu\text{m}^3 \text{ cell}^{-1}$ を用いて計算した (Naganuma et al. 1998)。ヤブレットボカビ類の炭素量と窒素量バイオマスは、それぞれ、 $1.65 \times 10^{-4} \mu\text{g C cell}^{-1}$ と $1.58 \times 10^{-5} \mu\text{g N cell}^{-1}$ を用いて計算した (Kimura et al. 1999)。

Sample no.	Date	Environmental data					Thraustochytrids					
		Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chloro-phyll (ppb)	Chloro-phyll <i>a</i> ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Trans-parency (m)	Density (cells l^{-1})	Lower of MPN (cells l^{-1})	Upper of MPN (cells l^{-1})	Biovolume ($\times 10^5 \mu\text{m}^3 \text{ l}^{-1}$)	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Nitrogen biomass ($\mu\text{g N l}^{-1}$)
27	March 14, 2008	11.2	29.4	15.14	22.88	-	2,271.0	374.9	9,224.0	11.90	0.375	0.036
32	April 2, 2008	11.4	22.4	1.18	1.78	-	385.5	90.2	1,323.0	2.02	0.064	0.006
38	April 16, 2008	13.6	26.3	2.12	3.20	-	4,747.0	1,148.0	15,390.0	24.87	0.783	0.075
44	April 24, 2008	15.8	20.3	25.09	37.91	-	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
50	May 1, 2008	17.8	23.3	5.21	7.87	-	474.7	114.8	1,539.0	2.49	0.078	0.008
56	May 14, 2008	16.1	29.9	3.04	4.59	-	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
63	May 27, 2008	21.1	14.1	2.84	4.29	-	1,036.0	229.5	3,010.0	5.43	0.171	0.016
69	June 10, 2008	22.1	16.5	8.79	13.28	2.0	1,036.0	229.5	3,010.0	5.43	0.171	0.016
75	June 26, 2008	22.4	23.3	26.73	40.39	-	425.3	101.6	1,418.0	2.23	0.070	0.007
82	July 10, 2008	26.7	21.8	7.81	11.80	2.0	10,360.0	2,295.0	30,100.0	54.29	1.709	0.164
88	July 24, 2008	28.0	26.8	2.10	3.17	3.0	399.5	94.2	1,357.0	2.09	0.066	0.006
94	August 6, 2008	29.3	25.3	8.33	12.58	1.0	10,360.0	2,295.0	30,100.0	54.29	1.709	0.164
100	August 21, 2008	26.8	30.5	2.40	3.62	3.0	474.7	114.8	1,539.0	2.49	0.078	0.008
106	September 4, 2008	26.2	30.9	4.92	7.43	2.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
112	September 18, 2008	25.3	30.7	9.57	14.45	2.5	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
118	October 9, 2008	22.9	26.7	2.85	4.30	4.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
124	October 30, 2008	21.0	30.7	3.45	5.22	4.5	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
130	November 18, 2008	19.2	30.8	4.59	6.94	7.0	474.7	114.8	1,539.0	2.49	0.078	0.008
136	December 9, 2008	14.1	29.1	0.74	1.12	6.5	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
142	January 6, 2009	12.9	31.1	1.34	2.02	6.5	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
148	February 3, 2009	8.7	21.5	1.08	1.64	3.5	-	-	-	-	-	-
153	March 6, 2009	10.3	28.3	7.49	11.32	-	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
158	March 17, 2009	11.5	18.5	2.76	4.17	2.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
163	April 3, 2009	11.5	31.0	2.05	3.09	3.5	0	0	0	0	0	0
168	April 16, 2009	16.1	25.4	1.46	2.20	4.0	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
173	May 2, 2009	16.2	27.3	5.34	8.06	2.0	4,747.0	1,148.0	15,390.0	24.87	0.783	0.075
178	May 12, 2009	17.8	29.0	1.69	2.55	4.0	33.9	5.5	121.2	0.18	0.006	0.001
183	May 27, 2009	18.5	29.7	19.64	29.67	3.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
188	June 4, 2009	19.5	29.3	18.88	28.52	2.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
193	June 11, 2009	19.6	29.5	8.46	12.77	4.0	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
197	June 17, 2009	23.9	25.5	4.47	6.75	2.0	0	0	0	0	0	0
202	June 30, 2009	24.9	24.6	5.29	7.99	2.5	0	0	0	0	0	0
209	July 14, 2009	28.0	23.8	2.28	3.44	3.5	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
214	July 31, 2009	28.2	22.7	1.94	2.94	3.5	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
219	August 14, 2009	27.8	20.9	10.54	15.92	1.5	1,632.0	309.0	7,020.0	8.55	0.269	0.026
224	August 27, 2009	25.4	28.5	6.65	10.05	2.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
229	September 10, 2009	26.5	31.5	3.49	5.27	4.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
234	September 30, 2009	24.8	30.0	0.68	1.03	11.0	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
239	October 19, 2009	22.4	29.4	3.02	4.56	4.0	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
244	November 9, 2009	19.6	29.6	5.78	8.74	3.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
249	December 2, 2009	16.7	29.4	3.13	4.73	4.5	0	0	0	0	0	0
259	December 28, 2009	12.5	30.1	0.81	1.23	7.0	0	0	0	0	0	0
264	January 19, 2010	8.0	27.3	5.06	7.65	2.0	0	0	0	0	0	0
269	February 9, 2010	9.3	26.3	2.35	3.55	3.0	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001
274	March 2, 2010	11.2	25.1	4.41	6.66	2.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
279	March 24, 2010	11.2	22.8	3.00	4.53	3.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
284	April 8, 2010	12.4	27.9	3.91	5.90	3.0	0	0	0	0	0	0
291	April 22, 2010	13.2	29.4	4.32	6.53	4.0	0	0	0	0	0	0
296	April 29, 2010	13.3	29.9	3.65	5.52	3.0	266.4	52.9	10,720.0	1.40	0.044	0.004
301	May 6, 2010	17.7	27.5	1.55	2.34	5.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
308	May 13, 2010	15.3	29.8	2.06	3.12	4.0	1,036.0	229.5	3,010.0	5.43	0.171	0.016
315	May 25, 2010	19.3	10.9	2.17	3.27	1.0	1,036.0	229.5	3,010.0	5.43	0.171	0.016
321	June 3, 2010	20.5	27.9	7.31	11.05	1.5	4,747.0	1,148.0	15,390.0	24.87	0.783	0.075
327	June 17, 2010	23.6	8.8	3.16	4.77	1.5	823.0	193.1	2,389.0	4.31	0.136	0.013
334	July 1, 2010	26.4	11.8	18.66	28.19	2.5	163.2	27.3	702.0	0.86	0.027	0.003
341	July 15, 2010	24.8	11.1	7.58	11.45	1.5	4,253.0	1,016.0	14,180.0	22.29	0.702	0.067
348	July 29, 2010	27.5	17.8	10.37	15.66	1.5	4,747.0	1,148.0	15,390.0	24.87	0.783	0.075
353	August 17, 2010	29.7	21.7	3.42	5.16	2.5	4,747.0	1,148.0	15,390.0	24.87	0.783	0.075
360	September 14, 2010	28.2	28.7	6.21	9.39	3.0	474.7	114.8	1,539.0	2.49	0.078	0.008
367	October 11, 2010	23.5	20.2	2.24	3.38	3.0	474.7	114.8	1,539.0	2.49	0.078	0.008
372	November 2, 2010	20.3	28.4	25.80	38.98	5.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
377	December 7, 2010	15.5	29.3	9.94	15.02	3.0	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002
382	January 6, 2011	10.5	31.1	3.06	4.62	6.0	266.4	52.9	1,072.0	1.40	0.044	0.004
Average		19.3	25.5	6.12	9.24	3.4	1,061.4			5.47	0.172	0.017
Min		8.0	8.8	0.68	1.03	1.0	0			0	0	0
Max		29.7	31.5	26.73	40.39	11.0	10,360.0			54.29	1.709	0.164

表10 大阪湾におけるサンプリングデータ (1/4)

Compact-CTDによって測定した、水温、塩分、クロロフィルa濃度、濁度の環境データ、ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の細胞密度、生物量、炭素量と窒素量バイオマス、浮遊性細菌に対するヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの割合、系統群ごとの分離株数を示した。表層水のCTDの観測データは、表層から0~0.5 m のデータを平均したものである。底層水の採水深度は測定深度から8Bは2 m上、15Bは1 m上であり、CTDは採水深度の測定データを採用した。ヤブレッツボカビ類の細胞密度は花粉MPN法によって測定し、95%の信頼限界によって上限と下限を求めた。ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の生物量は、それぞれ、 $524 \mu\text{m}^3 \text{ cell}^{-1}$ 、 $0.1 \mu\text{m}^3 \text{ cell}^{-1}$ を用いて計算した (Naganuma et al. 1998, Naganuma & Miura 1997)。ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の炭素量と窒素量バイオマスは、それぞれ、 $1.65 \times 10^{-4} \mu\text{g C cell}^{-1}$ と $1.58 \times 10^{-5} \mu\text{g N cell}^{-1}$ 、 $30.2 \text{ fg C cell}^{-1}$ と $5.8 \text{ fg N cell}^{-1}$ を用いて計算した (Kimura et al. 1999, Fukuda et al. 1998)。Ob1の系統群は、系統樹上で2つのグループに分かれたため、Ob1a (SEK 600, 707, 708 を含むグループ) とOb1b (SEK 709, 710 を含むグループ) に分けて表記した。Ob3iはOb3と同じ系統群に属しているが、配列上に挿入配列を含んでいたグループである。

Station	Sample no.	Date	Environmental data							Thraustochytrids					Bacterioplankton				Ratio of thra to bac carbon biomass (%)
			Depth	Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chl-Flu (ppb)	Chl a ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Turbidity (FTU)	Density (cells l^{-1})	Lower of MPN (cells l^{-1})	Upper of MPN (cells l^{-1})	Bio-volume ($\times 10^3 \mu\text{m}^3 \text{ l}^{-1}$)	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Nitrogen biomass ($\mu\text{g N l}^{-1}$)	Density ($\times 10^3 \text{ cells l}^{-1}$)	Bio-volume ($\times 10^2 \mu\text{m}^3 \text{ l}^{-1}$)	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Nitrogen biomass ($\mu\text{g N l}^{-1}$)	
Sta. 8	1103-8S	March 8, 2011	34	8.7	31.3	1.68	0.92	2.42	0	0	0	0	0	0	2.28	0.23	6.89	1.32	0
	1104-8S	April 5, 2011	34	10.2	31.2	5.09	11.43	5.47	0	0	0	0	0	10.77	1.08	32.53	6.25	0	
(0-0.5m)	1105-8S	May 11, 2011	34	14.1	32.4	1.59	0.63	1.76	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	2.54	0.25	7.66	1.47	0.57
	1106-8S	June 6, 2011	34	19.1	31.2	1.55	0.50	1.25	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	2.43	0.24	7.34	1.41	0.37
	1107-8S	July 5, 2011	34	22.7	31.8	5.58	12.94	7.75	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	3.04	0.30	9.17	1.76	0.48
	1108-8S	August 1, 2011	34	25.7	30.9	2.34	2.94	1.89	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	5.39	0.54	16.29	3.13	0.04
	1109-8S	September 6, 2011	33	25.0	22.2	2.32	2.89	5.46	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	3.61	0.36	10.90	2.09	0.25
	1110-8S	October 4, 2011	33	23.8	30.2	3.78	7.39	2.58	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	6.25	0.63	18.88	3.63	0.41
	1111-8S	November 8, 2011	33	21.6	31.3	1.15	-0.72	0.52	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	2.55	0.26	7.71	1.48	0.22
	1112-8S	December 5, 2011	33.5	17.4	31.5	1.16	-0.70	0.46	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	1.05	0.11	3.18	0.61	1.38
	1201-8S	January 6, 2012	34	12.5	32.0	0.72	0.29	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	1.11	0.11	3.34	0.64	0.20	
	1202-8S	February 3, 2012	34.5	9.7	32.0	1.05	-1.64	1.39	0	0	0	0	0	1.63	0.16	4.91	0.94	0	
	1203-8S	March 6, 2012	34	9.1	30.5	7.02	16.82	1.10	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	4.00	0.40	12.08	2.32	0.05
	1204-8S	April 9, 2012	34	12.2	29.6	0.31	-3.93	0.31	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	1.75	0.18	5.29	1.02	0.32
	1205-8S	May 7, 2012	33	15.2	31.9	1.54	-0.14	0.58	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	7.07	0.71	21.36	4.10	0.21
	1206-8S	June 4, 2012	32.5	17.9	32.1	0.73	-2.66	0.61	0	0	0	0	0	6.43	0.64	19.42	3.73	0	
	1207-8S	July 2, 2012	32.5	22.1	30.8	0.64	-2.91	0.40	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	5.93	0.59	17.91	3.44	0.15
	1208-8S	August 6, 2012	33.5	26.3	31.0	2.30	2.22	0.88	0	0	0	0	0	20.72	2.07	62.58	12.02	0	
	1209-8S	September 3, 2012	32.5	28.0	31.5	0.95	-1.97	0.97	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	10.79	1.08	32.58	6.26	0.13
	1210-8S	October 2, 2012	33.5	25.7	31.9	0.48	-3.42	0.60	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	3.57	0.36	10.79	2.07	0.41
	1211-8S	November 5, 2012	33	21.5	31.9	0.90	-2.11	0.78	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	8.07	0.81	24.38	4.68	0.03
	1212-8S	December 3, 2012	33.5	16.3	31.6	0.40	-3.65	0.26	0	0	0	0	0	2.07	0.21	6.26	1.20	0	
	1301-8S	January 7, 2013	34	10.2	30.1	3.51	5.95	0.79	0	0	0	0	0	3.32	0.33	10.03	1.93	0	
	1302-8S	February 1, 2013	33.5	9.2	30.5	6.15	13.31	0.86	0	0	0	0	0	2.73	0.27	8.25	1.59	0	
	Avg.			17.7	30.9	2.20	2.35	1.64	122.1	22.0	467.7	0.64	0.020	0.002	4.96	0.50	14.99	2.88	0.22
	Min			8.7	22.2	0.31	-3.93	0.26	0	0	0	0	0	1.05	0.11	3.18	0.61	0	
	Max			28.0	32.4	7.02	16.82	7.75	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	20.72	2.07	62.58	12.02	1.38
	Sum																		
Sta. 8	1103-8B	March 8, 2011	34	8.5	32.4	0.42	-2.97	0.33	0	0	0	0	0	1.09	0.11	3.30	0.63	0	
bottom	1104-8B	April 5, 2011	34	9.6	32.4	1.36	-0.06	1.55	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	2.09	0.21	6.31	1.21	0.10
(-2.0m)	1105-8B	May 11, 2011	34	13.9	32.6	1.41	0.08	1.52	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	3.89	0.39	11.76	2.26	0.06
	1106-8B	June 6, 2011	34	16.9	32.0	1.03	-1.09	2.22	81.7	5.5	237.4	0.43	0.013	0.001	2.04	0.20	6.15	1.18	0.22
	1107-8B	July 5, 2011	34	21.0	32.1	0.74	-1.98	2.58	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	1.25	0.13	3.78	0.73	0.18
	1108-8B	August 1, 2011	34	24.4	31.7	1.02	-1.12	5.01	0	0	0	0	0	1.50	0.15	4.53	0.87	0	
	1109-8B	September 6, 2011	33	25.4	32.6	0.52	-2.69	3.32	81.7	5.5	237.4	0.43	0.013	0.001	1.07	0.11	3.24	0.62	0.42
	1110-8B	October 4, 2011	33	25.2	31.8	0.65	-2.26	1.60	0	0	0	0	0	1.96	0.20	5.93	1.14	0	
	1111-8B	November 8, 2011	33	22.7	32.2	0.43	-2.94	0.60	0	0	0	0	0	5.57	0.56	16.83	3.23	0	
	1112-8B	December 5, 2011	33.5	18.8	32.2	0.66	-2.24	0.43	0	0	0	0	0	2.09	0.21	6.31	1.21	0	
	1201-8B	January 6, 2012	34	12.5	32.0	0.68	0.50	0	0	0	0	0	0	0.50	0.05	1.51	0.29	0	
	1202-8B	February 3, 2012	34.5	9.7	32.0	0.72	-2.67	0.88	0	0	0	0	0	1.73	0.17	5.23	1.00	0	
	1203-8B	March 6, 2012	34	9.6	32.1	0.62	-2.97	1.49	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	2.11	0.21	6.37	1.22	0.10
	1204-8B	April 9, 2012	34	11.1	31.7	0.96	-1.92	2.64	0	0	0	0	0	2.64	0.26	7.98	1.53	0	
	1205-8B	May 7, 2012	33	14.9	32.3	1.02	-1.72	0.88	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	4.47	0.45	13.49	2.59	0.13
	1206-8B	June 4, 2012	32.5	17.4	32.4	0.77	-2.50	1.44	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	11.08	1.11	33.45	6.42	0.02
	1207-8B	July 2, 2012	32.5	20.6	32.2	0.68	-2.80	2.64	0	0	0	0	0	10.83	1.08	32.69	6.28	0	
	1208-8B	August 6, 2012	33.5	25.0	31.5	0.82	-2.36	1.29	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	14.86	1.49	44.88	8.62	0.01
	1209-8B	September 3, 2012	32.5	27.3	31.8	0.76	-2.53	3.91	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	6.82	0.68	20.61	3.96	0.08
	1210-8B	October 2, 2012	33.5	25.7	32.3	0.34	-3.84	1.31	0	0	0	0	0	2.68	0.27	8.09	1.55	0	
	1211-8B	November 5, 2012	33	21.5	31.9	0.88	-2.16	0.50	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	7.95	0.79	24.01	4.61	0.33
	1212-8B	December 3, 2012	33.5	17.0	31.9	0.50	-3.33	0.74	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	4.18	0.42	12.62	2.42	0.05
	1301-8B	January 7, 2013	34	11.0	31.7	0.91	-2.09	1.14	0	0	0	0	0	3.41	0.34	10.30	1.98	0	
	1302-8B	February 1, 2013	33.5	9.3	31.9	1.41	-1.39	1.27	0	0	0	0	0	1.34	0.13	4.05	0.78	0	
	Avg.			17.5	32.1	0.80	-2.15	1.66	46.9	7.3	148.8	0.25	0.008	0.001	4.05	0.40	12.23	2.35	0.07
	Min			8.5	31.5	0.34	-3.84	0.33	0	0	0	0	0	0.50	0.05	1.51	0.29	0	
	Max			27.3	32.6	1.41	0.08	5.01	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	14.86	1.49	44.88	8.62	0.42
	Sum																		

表10 つづき (3/4)

Station	Sample no.	Date	Depth	Environmental data					Thraustochytrids					Bacterioplankton			Ratio of thra to bac carbon biomass (%)		
				Water temperature (°C)	Salinity (PSU)	Chl-Flu (ppb)	Chl α ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Turbidity (FTU)	Density (cells l^{-1})	Lower of MPN (cells l^{-1})	Upper of MPN (cells l^{-1})	Bio-volume ($\times 10^3 \mu\text{m}^3 \text{l}^{-1}$)	Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Nitrogen biomass ($\mu\text{g N l}^{-1}$)	Density ($\times 10^3 \text{ cells l}^{-1}$)	Bio-volume ($\times 10^3 \mu\text{m}^3 \text{l}^{-1}$)		Carbon biomass ($\mu\text{g C l}^{-1}$)	Nitrogen biomass ($\mu\text{g N l}^{-1}$)
Sta. 15	1103-15S	March 7, 2011	19	8.8	27.2	11.11	30.03	2.68	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	6.88	0.69	20.78	3.99	0.13
	1104-15S	April 5, 2011	18.5	10.5	30.8	3.50	6.52	2.66	0	0	0	0	0	0	17.01	1.70	51.37	9.87	0
(0-0.5m)	1105-15S	May 9, 2011	18.5	16.9	30.1	2.60	3.76	3.70	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	14.47	1.45	43.70	8.39	0.10
	1106-15S	June 6, 2011	18.5	20.0	20.4	12.25	33.54	5.74	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	7.32	0.73	22.12	4.25	0.20
	1107-15S	July 5, 2011	18.5	25.2	28.9	-1.48	-8.84	4.22	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	3.86	0.39	11.65	2.24	0.38
	1108-15S	August 1, 2011	18.5	28.0	24.6	21.17	61.10	6.58	4747.0	1148.0	15390.0	24.87	0.783	0.075	30.33	3.03	91.60	17.59	0.86
	1109-15S	September 6, 2011	18	25.9	22.2	1.41	0.09	7.45	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	3.75	0.38	11.33	2.18	0.15
	1110-15S	October 4, 2011	19	23.6	28.9	6.57	16.03	2.59	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	6.14	0.61	18.56	3.56	0.09
	1111-15S	November 8, 2011	18.5	21.1	29.6	1.76	1.16	0.76	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	6.43	0.64	19.42	3.73	0.23
	1112-15S	December 5, 2011	19	16.9	30.7	1.87	1.50	0.99	158.9	19.4	674.7	0.83	0.026	0.003	2.22	0.22	6.69	1.28	0.39
	1201-15S	January 7, 2012	19	11.0	29.9	1.04	0.63	136.5	5.5	300.5	0.72	0.023	0.002	0.61	0.06	1.83	0.35	1.23	
	1202-15S	February 6, 2012	19	8.0	29.0	5.50	12.10	1.16	0	0	0	0	0	0	3.77	0.38	11.38	2.19	0
	1203-15S	March 6, 2012	18.5	9.3	29.0	12.71	34.41	1.44	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	5.75	0.58	17.37	3.34	0.10
	1204-15S	April 9, 2012	18.5	11.9	27.6	0.49	-3.39	0.54	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	3.14	0.31	9.49	1.82	0.46
	1205-15S	May 7, 2012	18	17.2	26.1	5.58	12.37	1.56	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	8.25	0.83	24.92	4.79	0.31
	1206-15S	June 4, 2012	18	19.9	29.2	2.07	1.51	0.54	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	5.93	0.59	17.91	3.44	0.04
	1207-15S	July 2, 2012	18	22.6	27.7	1.99	1.26	0.82	474.7	114.8	1539.0	2.49	0.078	0.008	24.83	2.48	74.99	14.40	0.10
	1208-15S	August 6, 2012	18.5	27.5	29.0	5.10	10.89	1.72	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	31.40	3.14	94.84	18.21	0.05
	1209-15S	September 3, 2012	19	29.0	28.1	4.63	9.43	0.58	2664.0	528.5	10720.0	13.96	0.440	0.042	17.29	1.73	52.22	10.03	0.84
	1210-15S	October 2, 2012	19	25.2	27.7	0.68	-2.80	1.98	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	4.79	0.48	14.46	2.78	0.30
	1211-15S	November 5, 2012	19	20.1	30.6	11.05	29.26	1.07	1036.0	229.5	3010.0	5.43	0.171	0.016	17.83	1.78	53.84	10.34	0.32
	1212-15S	December 3, 2012	18.5	15.6	30.1	0.97	-1.89	0.50	0	0	0	0	0	0	3.79	0.38	11.44	2.20	0
	1301-15S	January 7, 2013	18.5	9.1	27.6	4.12	7.84	0.99	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	3.50	0.35	10.57	2.03	0.06
	1302-15S	February 1, 2013	19	9.6	28.9	4.10	6.95	1.04	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	2.18	0.22	6.58	1.26	0.26
	Avg.			18.0	28.1	5.03	11.43	2.16	508.9	107.7	1785.6	2.67	0.084	0.008	9.64	0.96	29.13	5.59	0.27
	Min			8.0	20.4	-1.48	-8.84	0.50	0	0	0	0	0	0	0.61	0.06	1.83	0.35	0
	Max			29.0	30.8	21.17	61.10	7.45	4747.0	1148.0	15390.0	24.87	0.783	0.075	31.40	3.14	94.84	18.21	1.23
	Sum																		
Sta. 15	1103-15B	March 7, 2011	19	8.5	32.5	2.21	2.56	0.65	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	1.35	0.14	4.08	0.78	0.42
bottom	1104-15B	April 5, 2011	18.5	9.5	32.3	1.02	-1.14	1.62	0.0	0	0	0	0	0	5.24	0.52	15.83	3.04	0
(-1.0m)	1105-15B	May 9, 2011	18.5	13.2	32.4	0.90	-1.49	2.41	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	1.71	0.17	5.18	0.99	0.52
	1106-15B	June 6, 2011	18.5	15.7	32.3	1.48	0.29	3.25	0.0	0	0	0	0	0	3.75	0.38	11.33	2.18	0
	1107-15B	July 5, 2011	18.5	19.5	31.4	0.94	-1.38	2.11	0.0	0	0	0	0	0	4.18	0.42	12.62	2.42	0
	1108-15B	August 1, 2011	18.5	23.0	32.0	1.17	-0.65	4.64	0.0	0	0	0	0	0	8.90	0.89	26.87	5.16	0
	1109-15B	September 6, 2011	18	25.9	32.0	0.47	-2.83	1.45	0.0	0	0	0	0	0	0.57	0.06	1.73	0.33	0
	1110-15B	October 4, 2011	19	25.2	31.6	0.89	-1.54	5.46	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	3.93	0.39	11.87	2.28	0.06
	1111-15B	November 8, 2011	18.5	22.8	32.2	0.60	-2.43	3.26	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	6.79	0.68	20.50	3.94	0.03
	1112-15B	December 5, 2011	19	18.6	32.0	1.14	-0.74	1.97	0.0	0	0	0	0	0	1.63	0.16	4.91	0.94	0
	1201-15B	January 7, 2012	19	12.7	32.1	0.83		4.21	0.0	0	0	0	0	0	0.63	0.06	1.89	0.36	0
	1202-15B	February 6, 2012	19	9.3	31.8	3.91	7.20	1.71	0.0	0	0	0	0	0	1.57	0.16	4.75	0.91	0
	1203-15B	March 6, 2012	18.5	9.2	31.7	1.60	0.06	1.33	0.0	0	0	0	0	0	1.32	0.13	3.99	0.77	0
	1204-15B	April 9, 2012	18.5	10.7	31.6	1.47	-0.36	11.74	0.0	0	0	0	0	0	4.68	0.47	14.13	2.71	0
	1205-15B	May 7, 2012	18	14.4	32.1	1.93	1.08	6.04	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	5.29	0.53	15.97	3.07	0.28
	1206-15B	June 4, 2012	18	16.9	32.3	1.02	-1.75	5.82	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	8.07	0.81	24.38	4.68	0.03
	1207-15B	July 2, 2012	18	19.1	32.0	0.84	-2.28	2.95	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	17.26	1.73	52.11	10.01	0.01
	1208-15B	August 6, 2012	18.5	24.2	31.5	0.92	-2.04	2.75	163.2	20.7	702.0	0.86	0.027	0.003	9.82	0.98	29.67	5.70	0.09
	1209-15B	September 3, 2012	19	27.2	31.8	1.02	-1.75	4.37	103.5	5.5	300.5	0.54	0.017	0.002	4.32	0.43	13.06	2.51	0.13
	1210-15B	October 2, 2012	19	25.7	32.2	0.47	-3.43	4.28	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	4.09	0.41	12.35	2.37	0.05
	1211-15B	November 5, 2012	19	21.4	31.9	1.01	-1.77	1.03	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	7.93	0.79	23.95	4.60	0.03
	1212-15B	December 3, 2012	18.5	17.1	31.8	0.50	-3.33	2.40	0.0	0	0	0	0	0	4.56	0.46	13.76	2.64	0
	1301-15B	January 7, 2013	18.5	11.6	31.9	1.61	0.10	2.56	40.1	5.5	136.5	0.21	0.007	0.001	2.00	0.20	6.04	1.16	0.11
	1302-15B	February 1, 2013	19	9.4	31.9	2.21	1.09	2.03	0.0	0	0	0	0	0	1.73	0.17	5.23	1.00	0
	Avg.			17.1	32.0	1.26	-0.72	3.34	45.0	6.0	168.0	0.24	0.007	0.001	4.64	0.46	14.01	2.69	0.07
	Min			8.5	31.4	0.47	-3.43	0.65	0.0	0	0	0	0	0	0.57	0.06	1.73	0.33	0
	Max			27.2	32.5	3.91	7.20	11.74	266.4	52.9	1072.0	1.40	0.044	0.004	17.26	1.73	52.11	10.01	0.52
	Sum																		

表10 つづき (4/4)

			Number of isolates in each phylogenetic group																																	
Station	Sample no.	Date	Number of isolates	UT2		Au2	Sc	Ob1		Ob2	Ob3	Ob4	Pa	Bo	Ul	Sl	Tc	Tsu	Tb	Tk	Tag1			UT7	UT3			UT4	UT5	UT6	La	Sum				
				a	b			a	b												UT4	UT7	UT7		a	b	c									
Sta. 15	1103-15S	March 7, 2011	4						2																							2				
surface	1104-15S	April 5, 2011	0																													0				
(0-0.5m)	1105-15S	May 9, 2011	3																												3	3				
	1106-15S	June 6, 2011	5																												5	5				
	1107-15S	July 5, 2011	5																3												2	5				
	1108-15S	August 1, 2011	5			5																									5	5				
	1109-15S	September 6, 2011	6																												4	4				
	1110-15S	October 4, 2011	7						2																						2	4				
	1111-15S	November 8, 2011	6																												3	3				
	1112-15S	December 5, 2011	6																												2 2	4				
	1201-15S	January 7, 2012	5																												4	4				
	1202-15S	February 6, 2012	0																													0	0			
	1203-15S	March 6, 2012	7						2	2																						4	4			
	1204-15S	April 9, 2012	3																													1	1			
	1205-15S	May 7, 2012	5						2																							1	3			
	1206-15S	June 4, 2012	5			1 2																										3	3			
	1207-15S	July 2, 2012	6							1																						3	4			
	1208-15S	August 6, 2012	6																													3	3			
	1209-15S	September 3, 2012	6																	1												2	3			
	1210-15S	October 2, 2012	6																													3	4			
	1211-15S	November 5, 2012	8																													3	4			
	1212-15S	December 3, 2012	0																														0	0		
	1301-15S	January 7, 2013	6							3																							3	3		
	1302-15S	February 1, 2013	3																														0	0		
	Avg.																																			
	Min																																			
	Max																																			
	Sum		113	0	1	7	0	0	2	4	6	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	3	0	6	0	0	18	0	18	2	0	1	0	0	71	
Sta. 15	1103-15B	March 7, 2011	3							3																							3	3		
bottom	1104-15B	April 5, 2011	0																															0	0	
(-1.0m)	1105-15B	May 9, 2011	3																															3	3	
	1106-15B	June 6, 2011	0																															0	0	
	1107-15B	July 5, 2011	0																															0	0	
	1108-15B	August 1, 2011	0																															0	0	
	1109-15B	September 6, 2011	0																															0	0	
	1110-15B	October 4, 2011	1																															1	1	
	1111-15B	November 8, 2011	0																															0	0	
	1112-15B	December 5, 2011	0																															0	0	
	1201-15B	January 7, 2012	0																															0	0	
	1202-15B	February 6, 2012	0																															0	0	
	1203-15B	March 6, 2012	0																															0	0	
	1204-15B	April 9, 2012	0																															0	0	
	1205-15B	May 7, 2012	1																															1	1	
	1206-15B	June 4, 2012	0																															0	0	
	1207-15B	July 2, 2012	2																															2	2	
	1208-15B	August 6, 2012	5							2																								1	3	
	1209-15B	September 3, 2012	5																		1												2	3		
	1210-15B	October 2, 2012	0																															0	0	
	1211-15B	November 5, 2012	0																															0	0	
	1212-15B	December 3, 2012	0																															0	0	
	1301-15B	January 7, 2013	0																															0	0	
	1302-15B	February 1, 2013	0																															0	0	
	Avg.																																			
	Min																																			
	Max																																			
	Sum		20	0	0	0	0	0	0	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	3	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	16		

表11 大阪湾8Sにおける、ヤブレッツボカビ類の細胞密度 (Thra), 浮遊性細菌の細胞密度 (Bac), 水温 (Temp), 塩分 (Sali), クロロフィルa濃度 (Chl) 間の相関係数

	Thra	Bac	Temp	Sali	Chl
Thra	1				
Bac	-0.072	1			
Temp	0.479*	0.421*	1		
Sali	-0.036	0.052	-0.174	1	
Chl	-0.057	0.045	-0.306	-0.144	1

*p < 0.05

表12 大阪湾15Sにおける、ヤブレッツボカビ類の細胞密度 (Thra), 浮遊性細菌の細胞密度 (Bac), 水温 (Temp), 塩分 (Sali), クロロフィルa濃度 (Chl) 間の相関係数
15Sで観測された、ヤブレッツボカビ・スパイク時のデータは解析から除外した。

	Thra	Bac	Temp	Sali	Chl
Thra	1				
Bac	0.446*	1			
Temp	0.353	0.377	1		
Sali	0.007	0.130	-0.235	1	
Chl	0.247	0.137	-0.298	-0.237	1

*p < 0.05

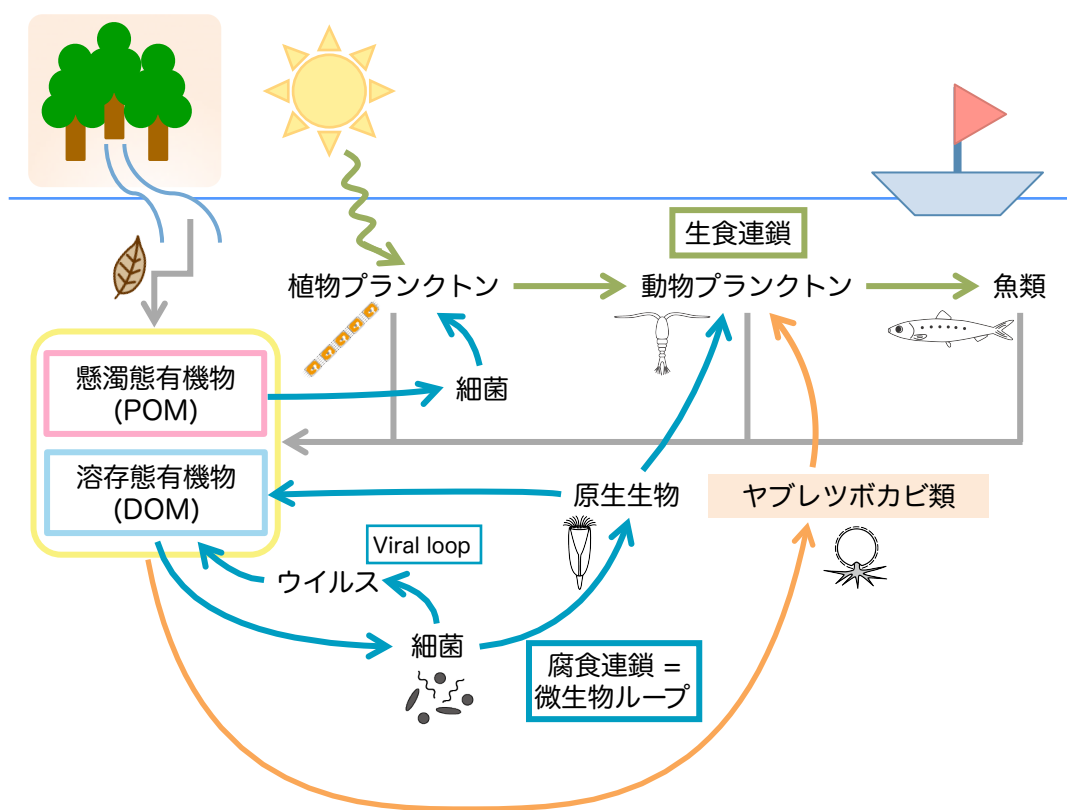


図1 海洋における食物網

海洋生態系における物質循環の大きな流れとして、植物プランクトンを起点とした生食連鎖および、それらの死骸、排泄物や陸起源有機物などの有機物を分解する、腐食連鎖である微生物ループが認知されている。本研究では、原生生物と同等の大きさで、従属栄養性の真核生物であるヤブレッツボカビ類が、有機物分解に関わっている重要性を示唆した。

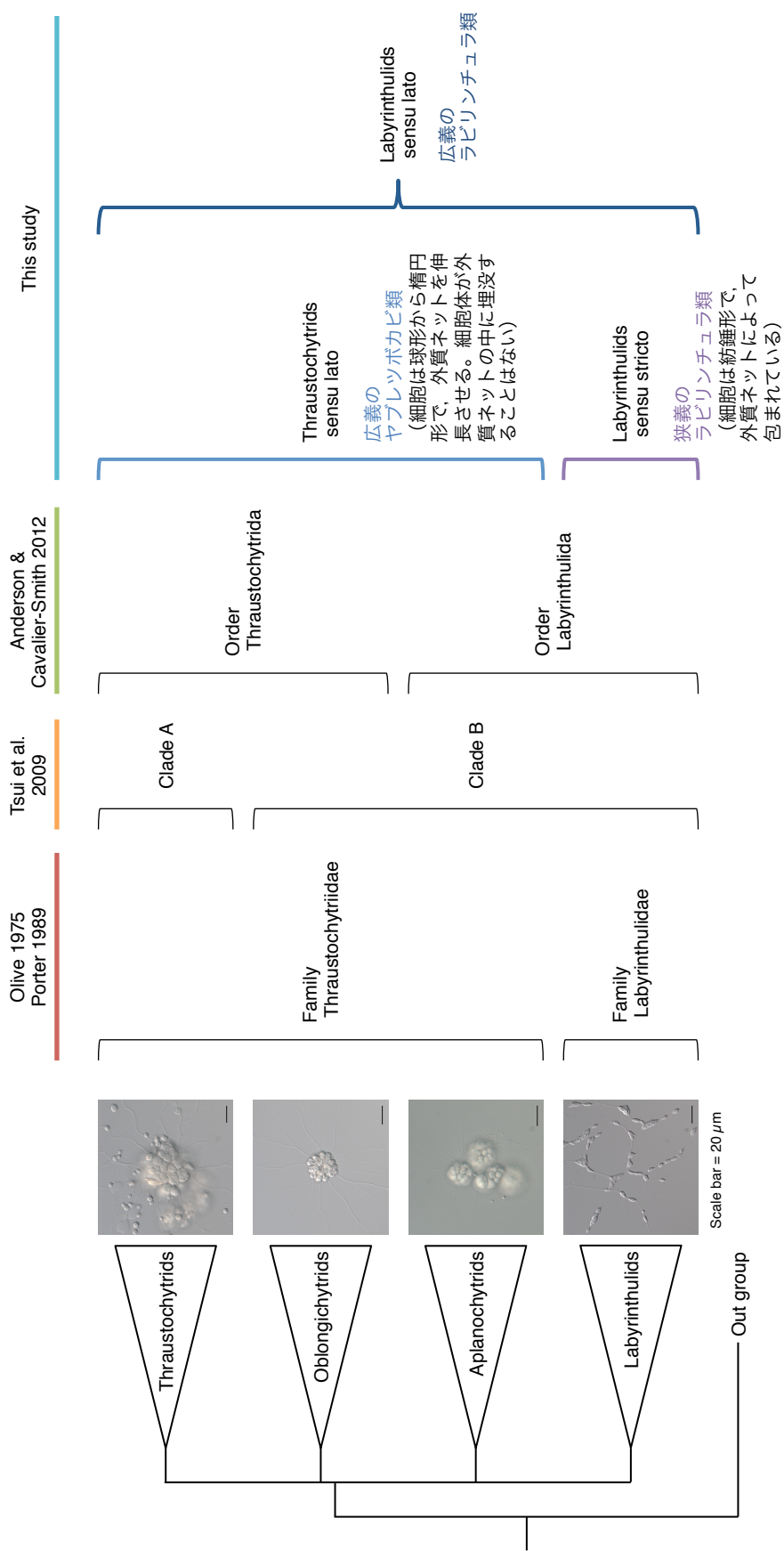


図2 ラビリントチュラ類の分類の変遷と本研究での認識
 本研究では、狭義のヤブレッツボカビ類 (thraustochytrids), オブロンギキトリウム類 (oblongichytrids), アプランキトリウム類 (aplanochytrids) の3系統群をまとめて、広義のヤブレッツボカビ類とし、ラビリントチュラ類 (labyrinthulids) を狭義のラビリントチュラ類として呼称した。これら4つの系統群をまとめて、広義のヤブレッツボカビ類とした。

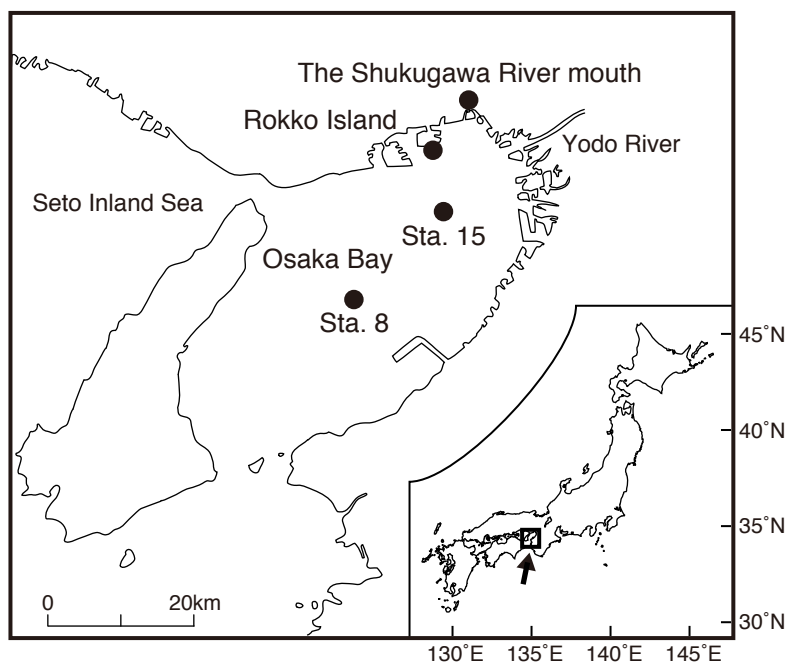


図3 調査地点

瀬戸内海の東端の大阪湾に位置する、夙川河口、六甲アイランド南岸、大阪湾の Sta. 8 と Sta. 15 の、黒丸で示した4ヶ所で調査を行った。

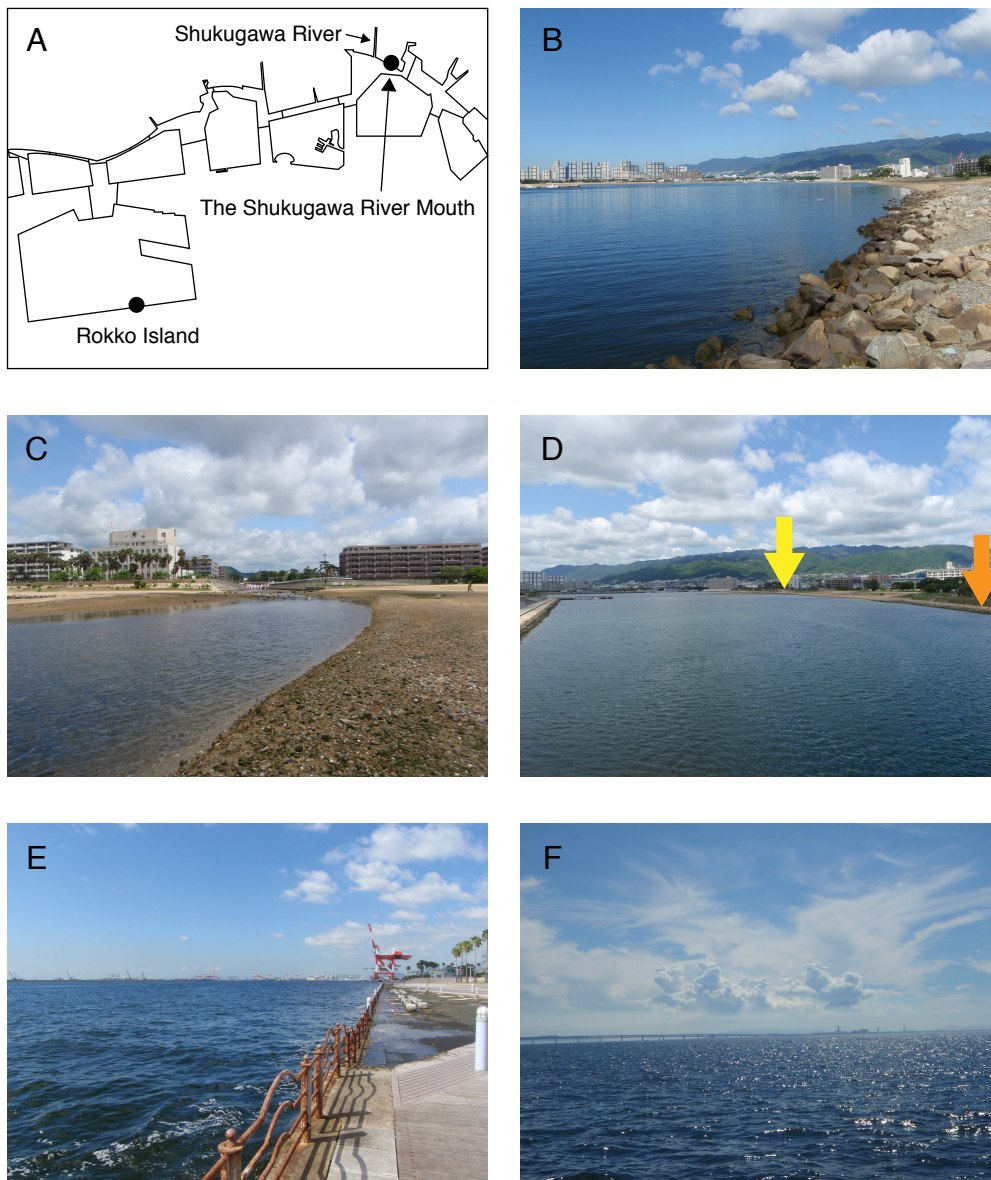


図4 夙川河口，六甲アイランド南岸，大阪湾の各調査地の様子

- A. 夙川河口と六甲アイランド南岸の定点（黒丸），
- B. 夙川河口の定点（定点から西側の河口を向いて），
- C. 夙川河口（河口の干潟から上流を向いて），
- D. 夙川河口の定点（オレンジ矢印）と河口（黄色矢印），
- E. 六甲アイランド南岸の定点（定点から西側を向いて），
- F. 大阪湾（関西国際空港付近）

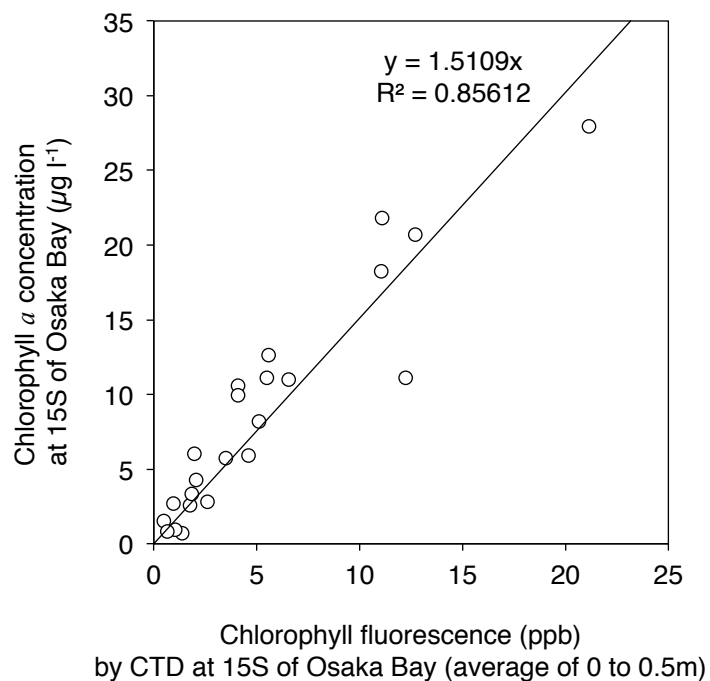


図5 大阪湾 15S における、クロロフィル蛍光と、クロロフィル *a* 濃度の相関関係
compact-CTD の測定によるウラニンを基準としたクロロフィル蛍光と、アセトン抽出によるクロロフィル *a* 濃度の相関分析をした。クロロフィル蛍光がマイナスの値になっているデータは除外した。この相関関係から求めた回帰式 ($y = 1.5109x$) を用いて、夙川河口において compact-CTD で測定をしたクロロフィル蛍光の値を、クロロフィル *a* 濃度に変換した。R² は回帰式の適合度である決定係数を表している。

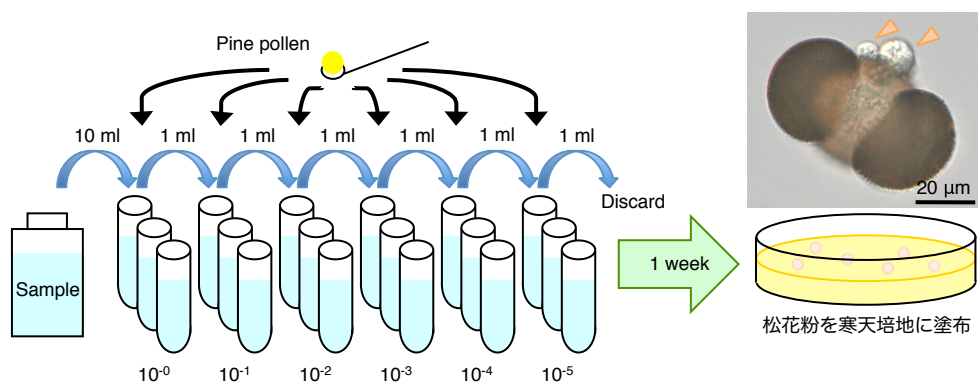


図6 松花粉MPN法による細胞密度の測定方法

海水サンプル10 mlから10倍の希釈系列を6段階作成し (n=3), すべてのサンプルに松花粉を添加した。1週間培養した後, 松花粉を寒天培地に塗布し, ヤブレッツボカビ類のコロニーの出現の有無を観察し, その結果から元のサンプル中の細胞密度を推定した。オレンジの矢尻は, 松花粉に着生したヤブレッツボカビ類である。

UT1: unidentified thraustochytrid 1
UT2a: unidentified thraustochytrid 2a
UT2b: unidentified thraustochytrid 2b
Tau: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>aureum</i>
Ts: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>striatum</i>
Tk: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>kinnei</i>
Al: <i>Aurantiochytrium limacinum</i>
Au1: <i>Aurantiochytrium</i> sp. 1
Au2: <i>Aurantiochytrium</i> sp. 2
Pa: <i>Parietichytrium</i> sp.
Bo: <i>Btoryochytrium</i> sp.
Sc: <i>Schizochytrium</i> sp.
Si: <i>Sicyoidochytrium</i> sp.
Tc: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>caudivorum</i>
Tga: <i>Thraustochytrium gaertnerium</i>
UT3a: unidentified thraustochytrid 3a
UT3b: unidentified thraustochytrid 3b
UT3c: unidentified thraustochytrid 3c
Ul: <i>Ulkenia</i> sp.
Tag: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>aggregatum</i>
Tp: <i>Thraustochytrium</i> aff. <i>pachydermum</i> / QPX
UT7: unidentified thraustochytrid 7
Ob1: <i>Oblongichytrium</i> sp. 1
Ob2: <i>Oblongichytrium</i> sp. 2
Ob3: <i>Oblongichytrium</i> sp. 3
Ob4: <i>Oblongichytrium</i> sp. 4
Ob5: <i>Oblongichytrium</i> sp. 5
Ap: <i>Aplanochytrium</i> sp.
La: <i>Labyrinthula</i> sp.
UT4: unidentified thraustochytrid 4
UT5: unidentified thraustochytrid 5
UT6: unidentified thraustochytrid 6
others

図7 系統群の略称

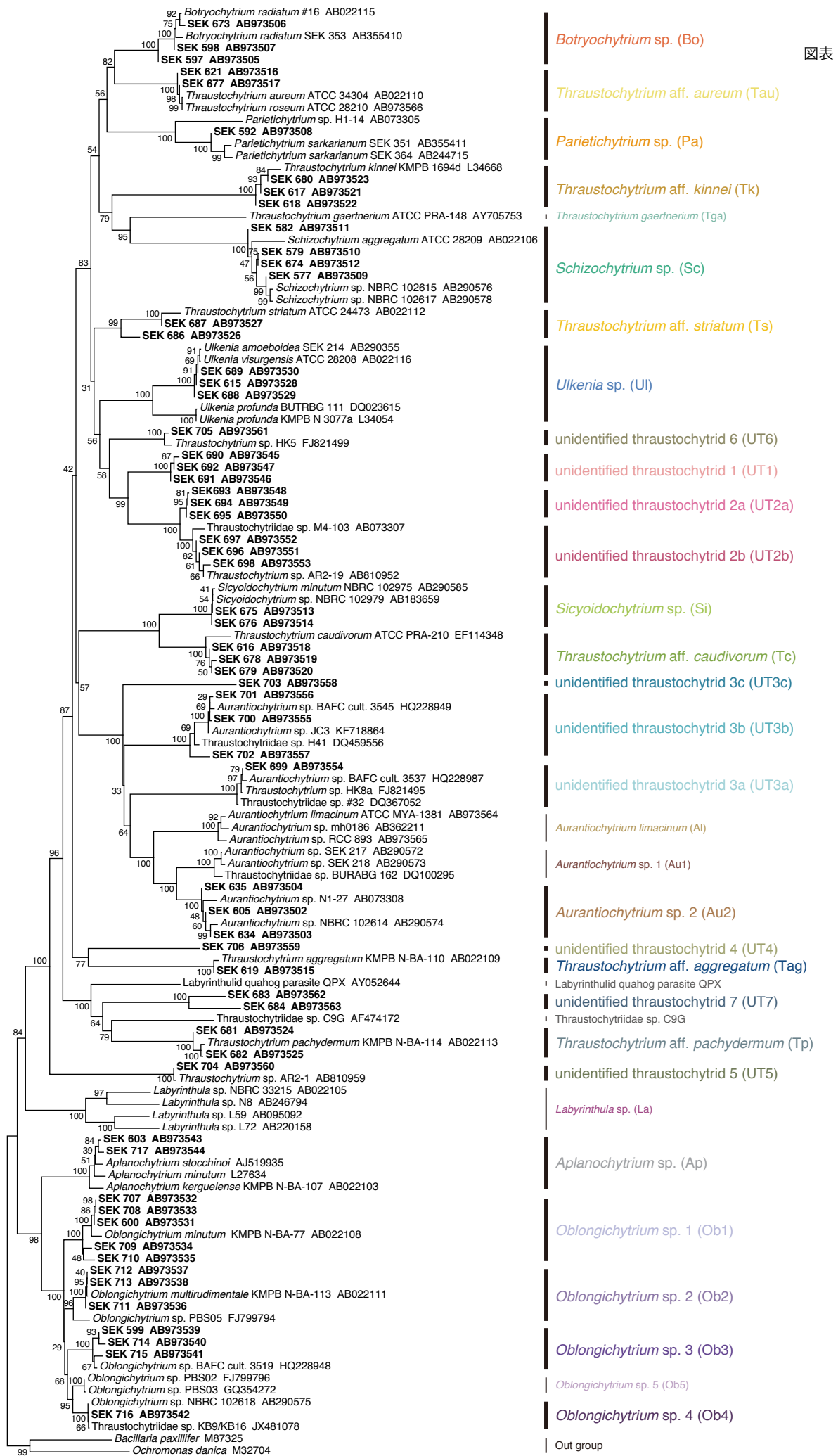


図 8 本研究の分離株を含めた、18S rRNA 遺伝子に基づく広義のラビリンチュラ類の分子系統樹
 系統解析は、NJ 法により系統樹を作成し、ブートストラップ値は 1,000 回の再抽出によって求めた。使用した配列は表 3, 4 に示した。SEK から始まる、太字で示したものが、本研究で分離同定した株であり、出現した系統群は、まとまりを示す縦線を太線で示した。

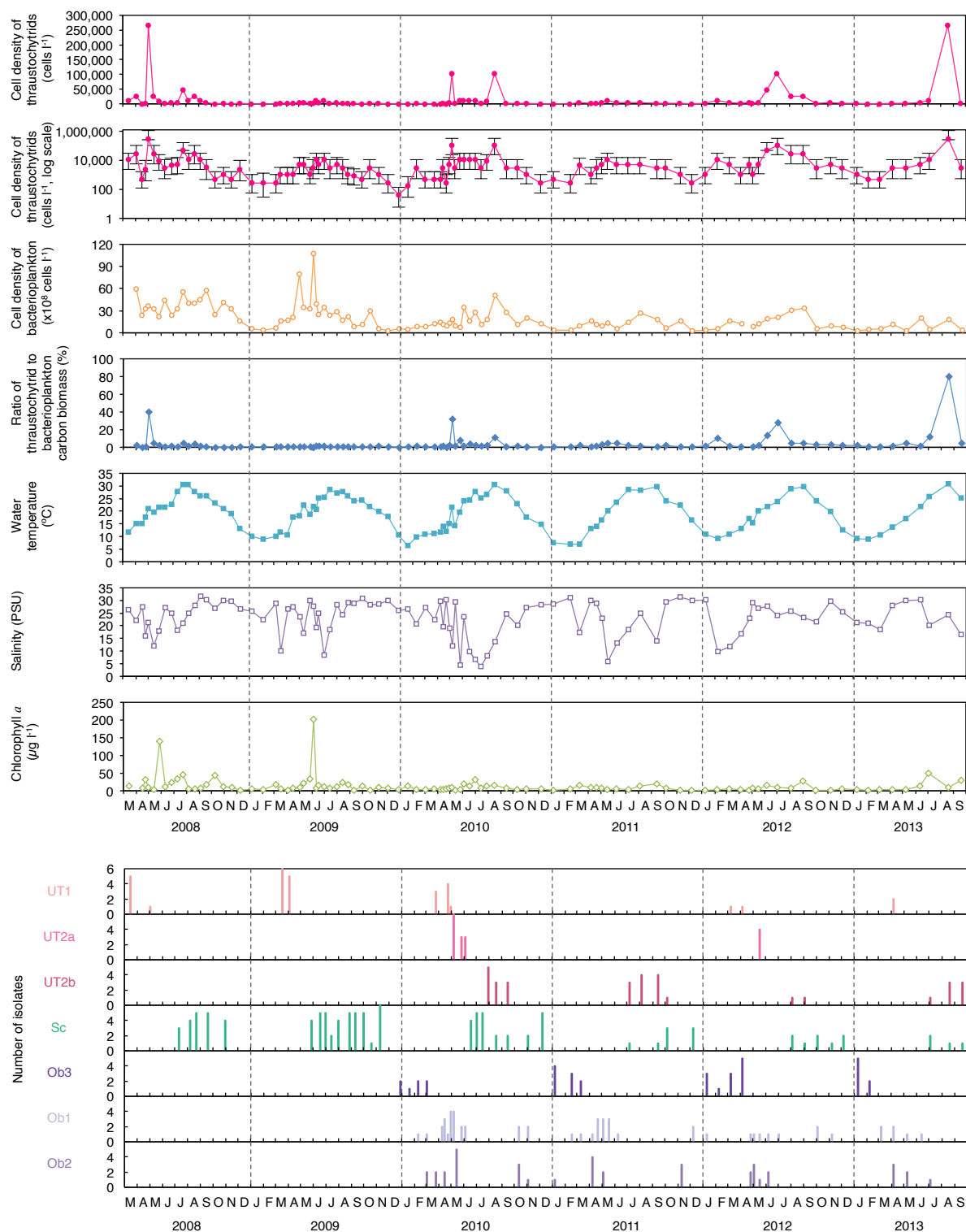


図9 夙川河口における調査結果

夙川河口では、2008年3月～2013年9月まで、月に1～2回のサンプリング調査を計100回行った。折れ線グラフは、上から、ヤブレットボカビ類の細胞密度、log表記をしたヤブレットボカビ類の細胞密度と95%信頼限界の誤差、浮遊性細菌の細胞密度、浮遊性細菌に対する、ヤブレットボカビ類の炭素量バイオマスの割合、水温、塩分、クロロフィルa濃度の変動である。棒グラフは、主要系統群の分離株数を示した。系統群の略称は図7に示した。

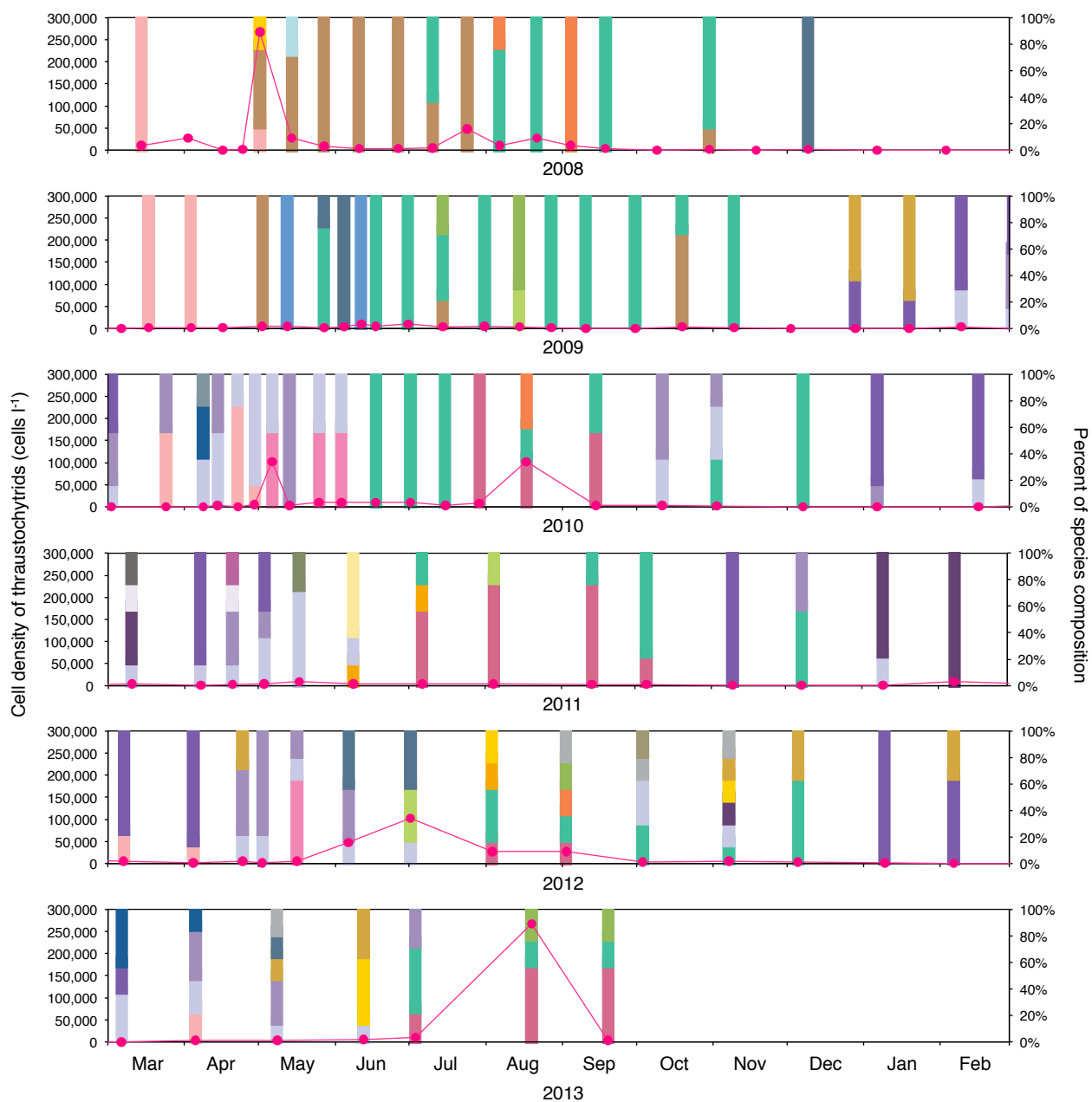


図 10 夙川河口における，構成系統群の変動

折れ線グラフはヤブレッツボカビ類の細胞密度である。棒グラフは構成系統群の組成であり，それぞれのサンプリングで分離同定した株数のうち，それぞれの系統群の株数を割合で示した。詳細は表 7 に示した。系統群の凡例は図 7 に示した。

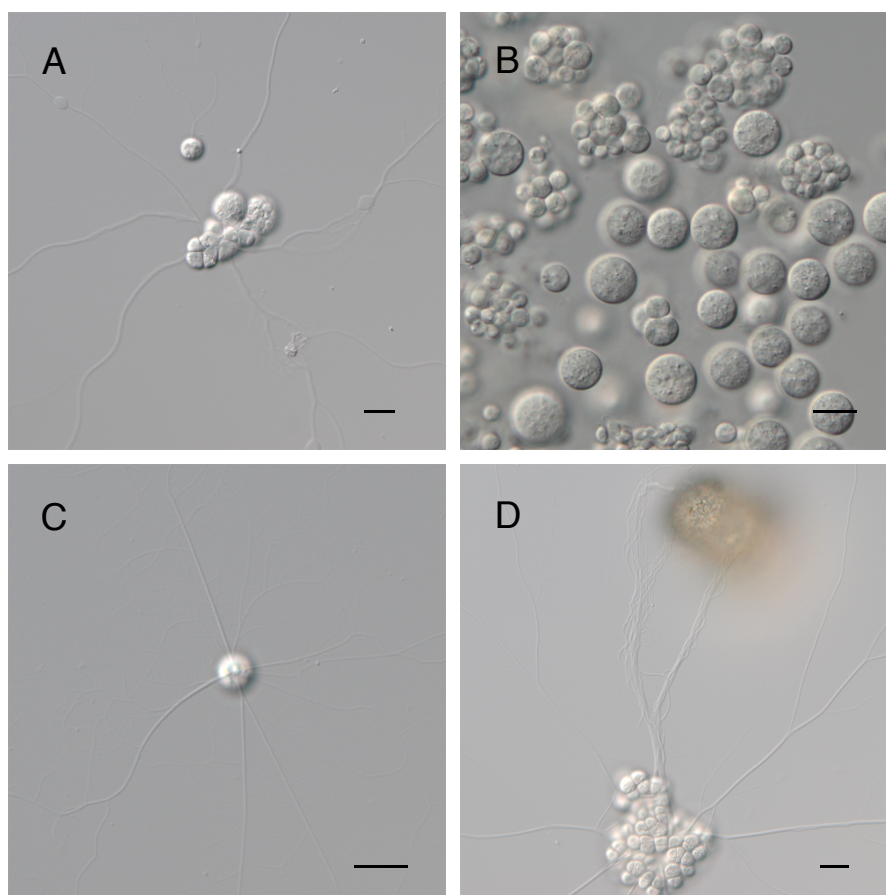


図 11 ヤブレッツボカビ類の光学顕微鏡像

A: *Schizochytrium* sp. (SEK 579); B: unidentified thraustochytrid 1 (SEK 691); C: unidentified thraustochytrid 2a (SEK 694); D: *Oblongichytrium* sp. 1 (SEK 600)。SEK 600 では、松花粉に向かって太く外質ネットを伸長させている様子が観察された。SEK691 は d-GPY 培養下、SEK579, SEK694, SEK600 は松花粉を添加した滅菌海水での培養下の細胞である。スケールバー = 10 μm 。

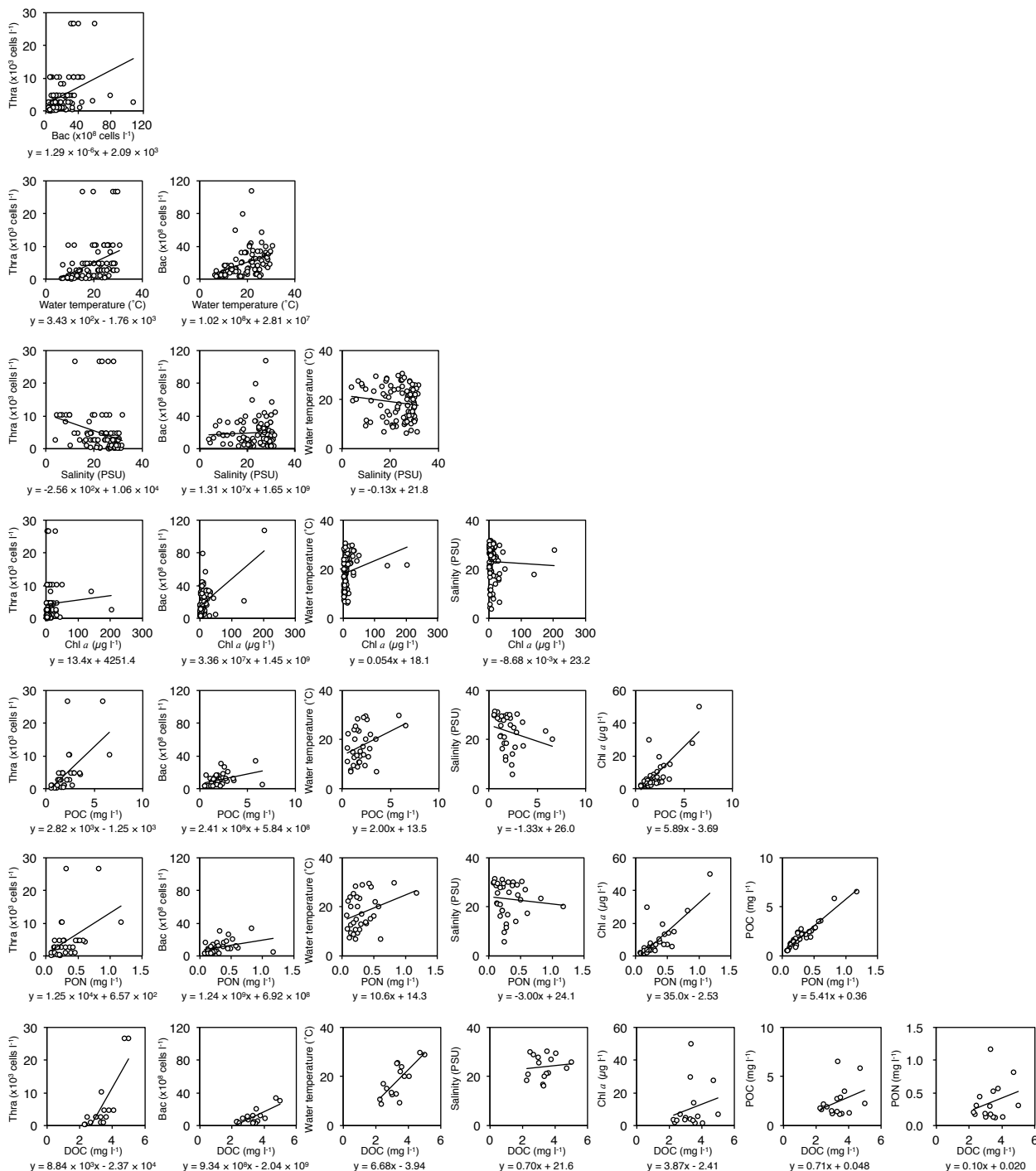


図 12 夙川河口における、分解者 (ヤブレッツボカビ類と浮遊性細菌の細胞密度) と環境因子 (水温, 塩分, クロロフィル a 濃度, POC, PON, DOC) の相関
白抜き丸がそれぞれのデータ, 直線が回帰直線を示した。また, 単回帰分析によって得られた式を示した。

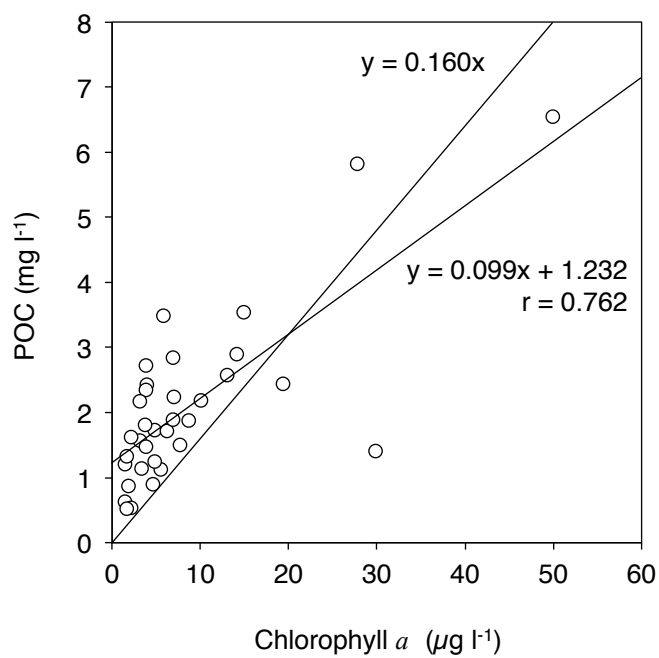
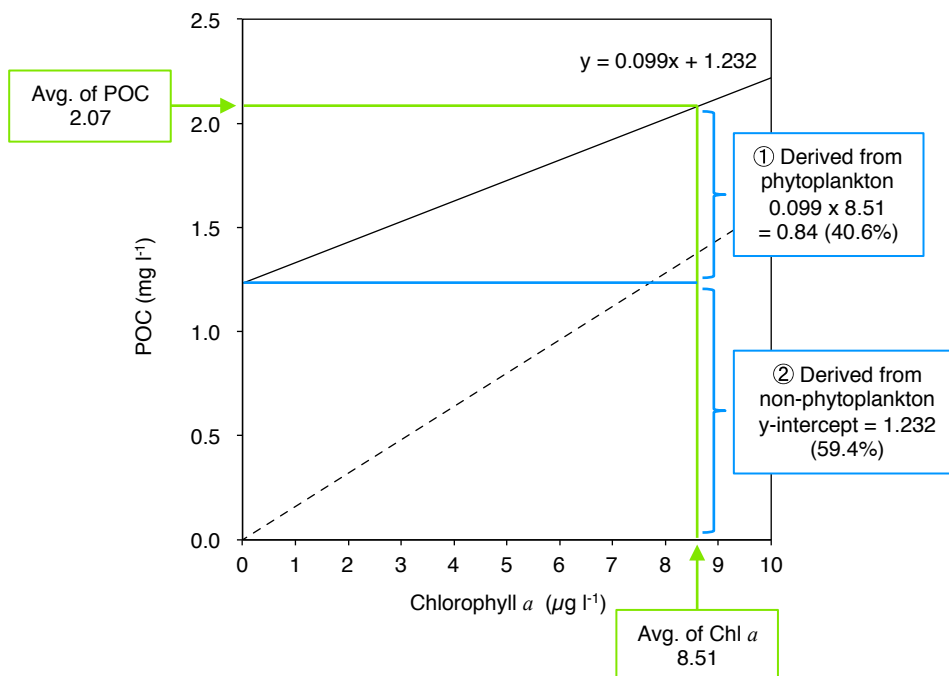


図 13 夙川河口における、クロロフィル *a* 濃度と POC の相関関係
ヤブレットボカピ・スパイク時のデータは除いて、相関分析を行った。最小
モデルの場合、 $y = 0.009x + 1.232$, y 切片を原点とした場合の最大モデルは、
 $y = 0.160x$ の回帰式が導き出された。 r は相関係数である。

A. Minimum model



B. Maximum model

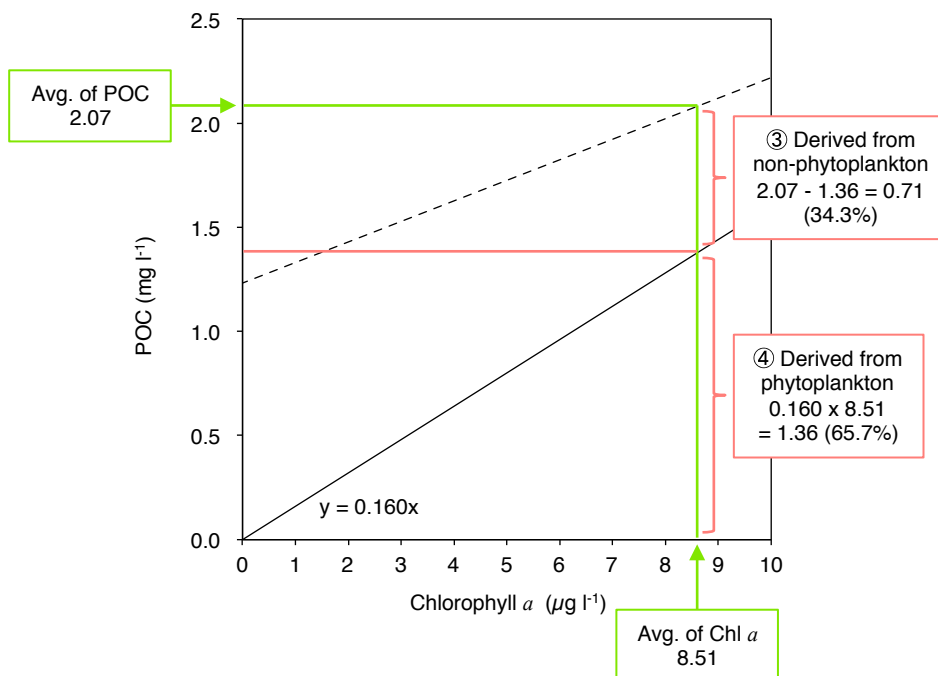


図14 夙川河口における、クロロフィルa濃度とPOCの相関関係から求めた、植物プランクトン由来のPOCと、植物プランクトン以外の由来によるPOCの計算方法
 最小モデル (A) の場合、クロロフィルa濃度が0の時のPOCの値 (= 切片 1.232) は、植物プランクトン以外の由来によるPOCに相当する (②)。そのため、POCの平均値から切片の値を引いたものが植物プランクトン由来のPOCとなる (①)。一方、最大モデル (B) の場合、回帰式にクロロフィルaの平均値を代入した値が植物プランクトン由来のPOCとなり (④)、最小モデルの値との差が植物プランクトン以外の由来によるPOCとなる (③)。

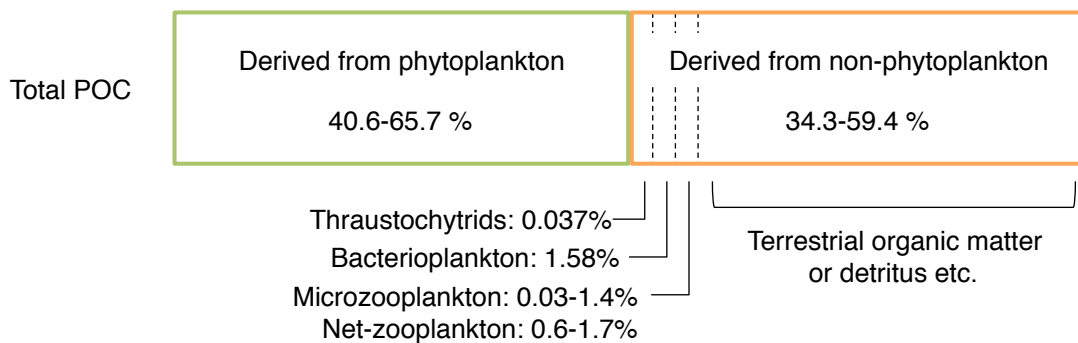


図15 推定された夙川河口におけるPOCの由来

図13, 14の回帰式から, 植物プランクトン由来のPOCは総POCの40.6~65.7%になることが求められた。一方で, 植物プランクトン以外の由来によるPOCは, 34.3~54.9%であることが予想された。そのうち, ヤブレツボカビ類, 浮遊性細菌, マイクロ動物プランクトン, ネット動物プランクトンが占める割合は無視できるほど小さく, ほとんどが陸起源有機物やデトリタスであることが考えられた。

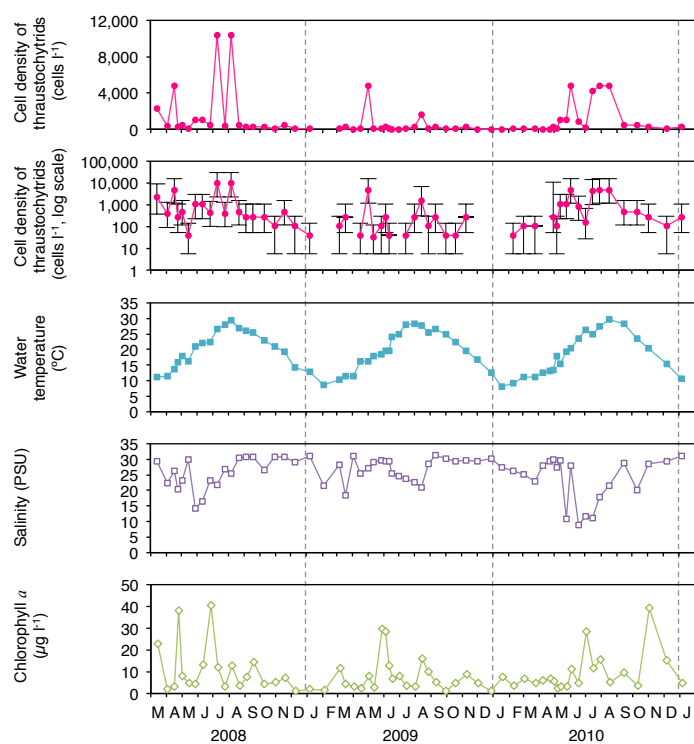


図 16 六甲アイランド南岸における調査結果

六甲アイランド南岸では、2008年3月～2011年1月まで、月に1～2回のサンプリング調査を計63回行った。折れ線グラフは、上から、ヤブレッツボカビ類の細胞密度、log表記をしたヤブレッツボカビ類の細胞密度と95%信頼限界の誤差、水温、塩分、クロロフィルa濃度の変動である。

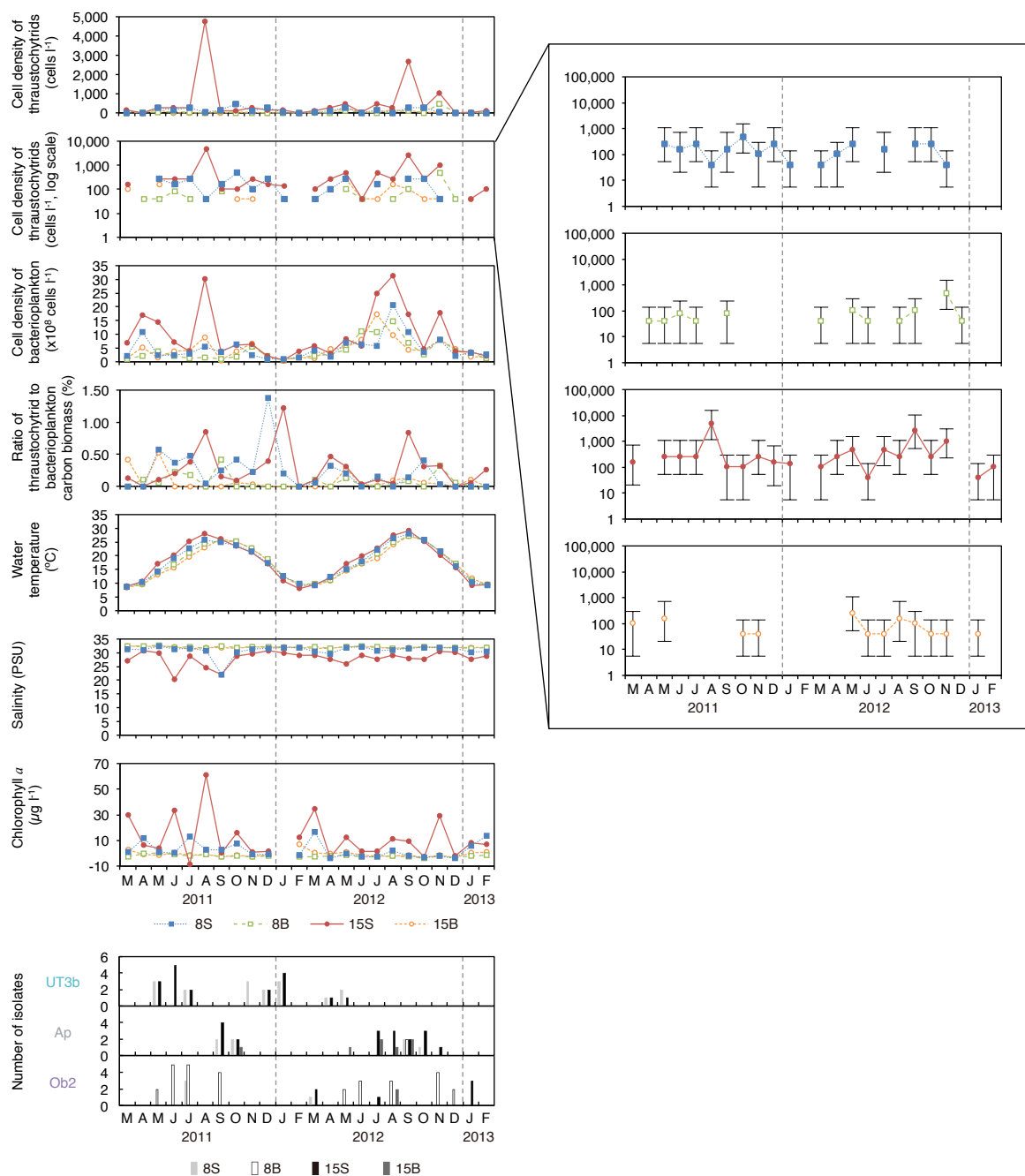


図 17 大阪湾 Sta. 8, Sta. 15 の表層水と底層水における調査結果

大阪湾では、2011年3月～2013年2月まで、月1回のサンプリング調査を計24回行った。折れ線グラフは、上から、ヤブレッツボカビ類の細胞密度、log表記をしたヤブレッツボカビ類の細胞密度、浮遊性細菌の細胞密度、浮遊性細菌に対する、ヤブレッツボカビ類の炭素量バイオマスの割合、水温、塩分、クロロフィルa濃度の変動である。棒グラフは、主要系統群の分離株数を示した。系統群の略称は図7に示した。右の折れ線グラフは、調査地点ごとのlog表記をしたヤブレッツボカビ類の細胞密度と95%信頼限界の誤差である。

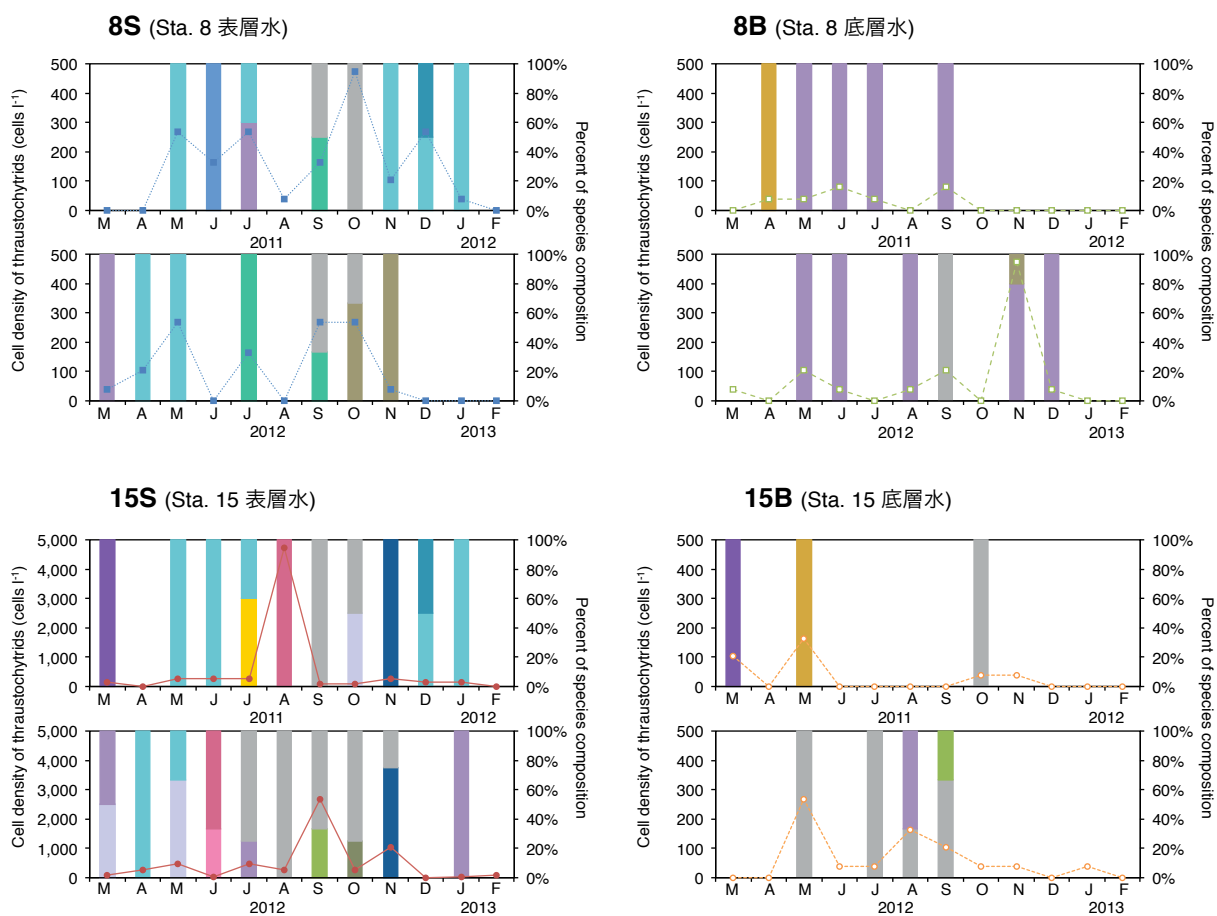


図 18 大阪湾 Sta. 8, Sta. 15 の表層水と底層水における、構成系統群の変動
折れ線グラフはヤブレッツボカビ類の細胞密度である。棒グラフは構成系統群の組成であり、それぞれのサンプルリングで分離同定した株数のうち、それぞれの系統群の株数を割合で示した。詳細は表 10 に示した。系統群の凡例は図 7 に示した。

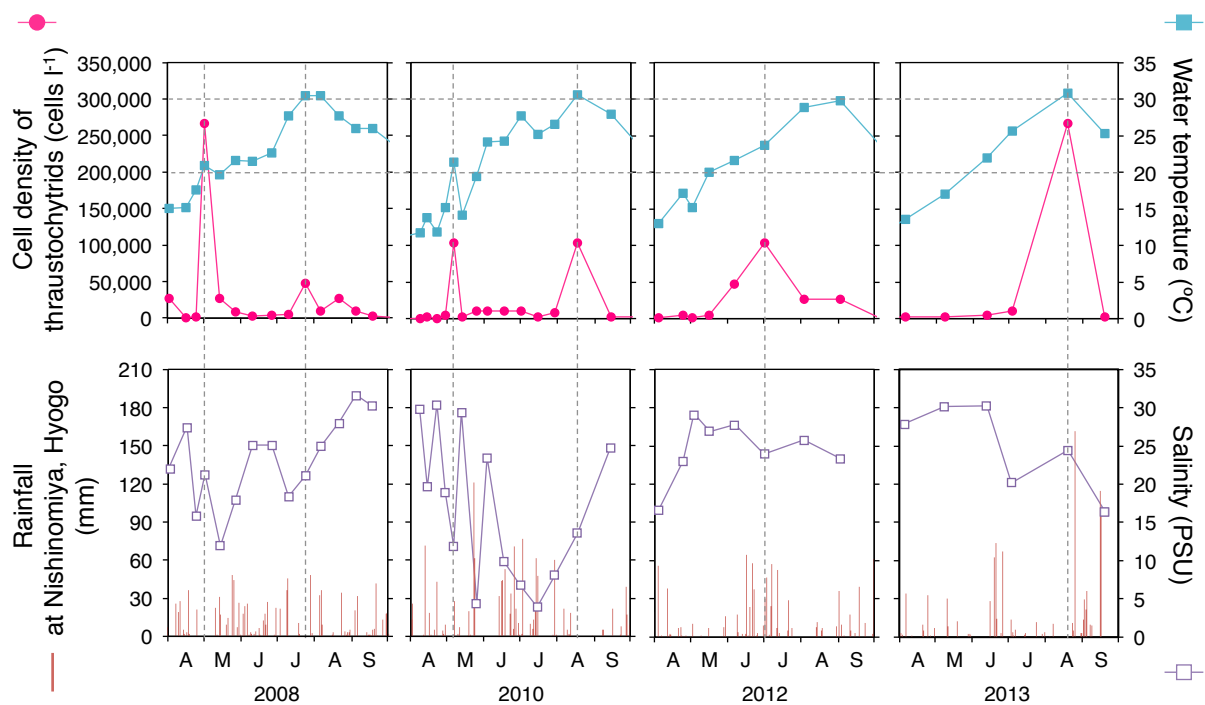


図 19 夙川河口における、ヤブレッツボカビ・スパイク時の、ヤブレッツボカビ類の細胞密度、水温、塩分、降水量
 上の折れ線グラフはヤブレッツボカビ類の細胞密度と水温、下の折れ線グラフは塩分を示した。棒グラフは気象庁の気象統計情報 (<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>) から引用した、兵庫県西宮市における降水量の変動である。

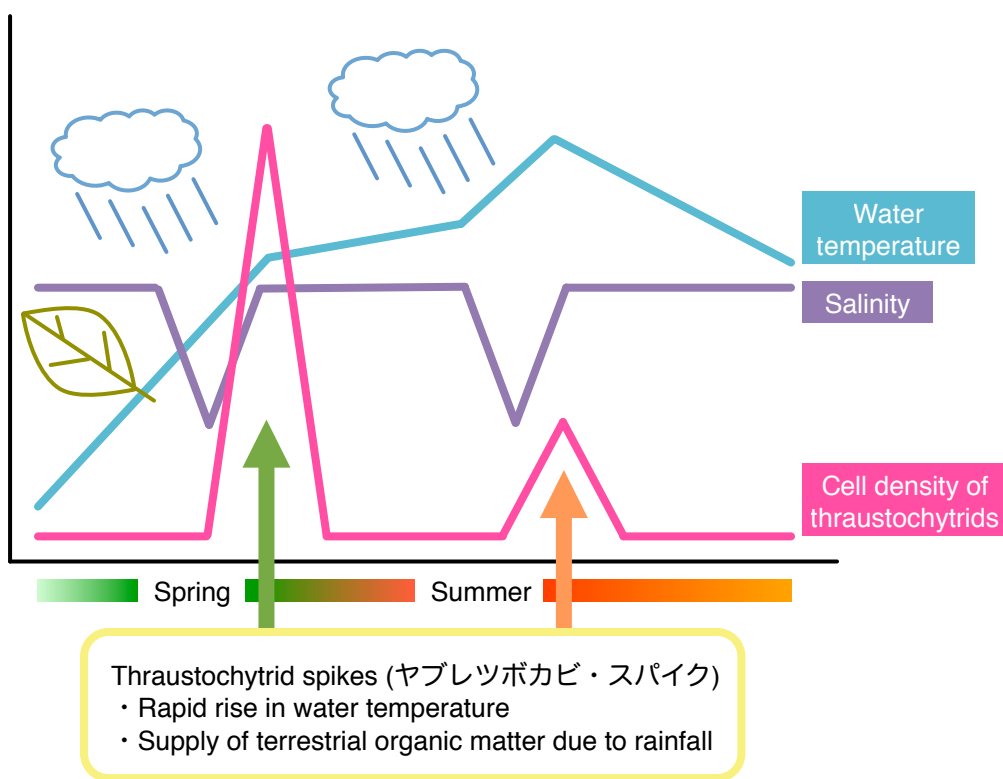


図20 ヤブレッツボカビ・スパイク発生過程の概略図
 ヤブレッツボカビ・スパイクは水温の急激な上昇と、塩分の低下が関係していることが考えられた。

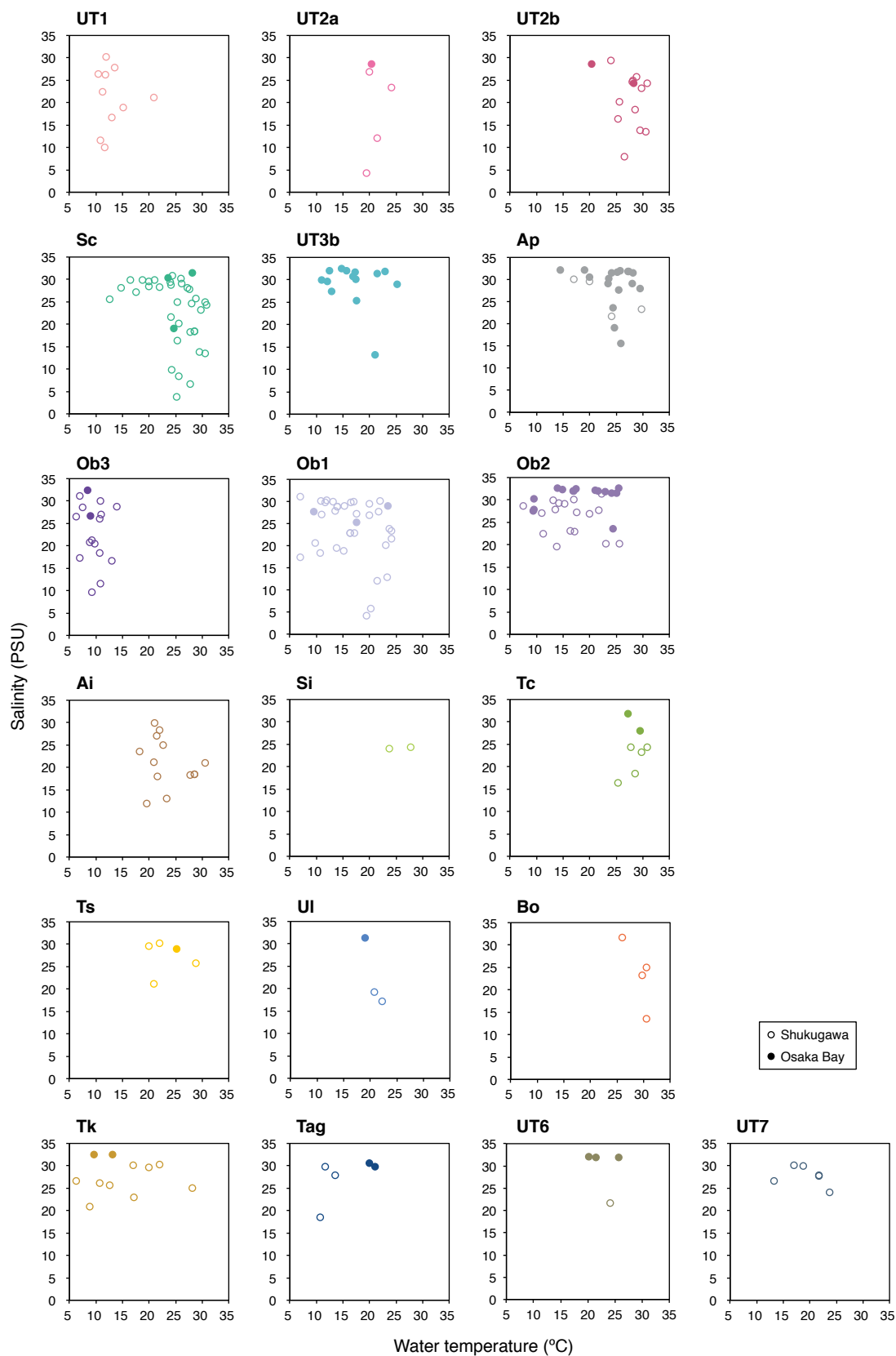


図 21 各系統群の株が分離された、サンプリング時の水温と塩分
 x 軸は水温、y 軸は塩分を示し、白抜き丸は夙川河口、塗りつぶし丸は大阪湾のデータを示した。
 各系統群の略称は図 7 に示した。

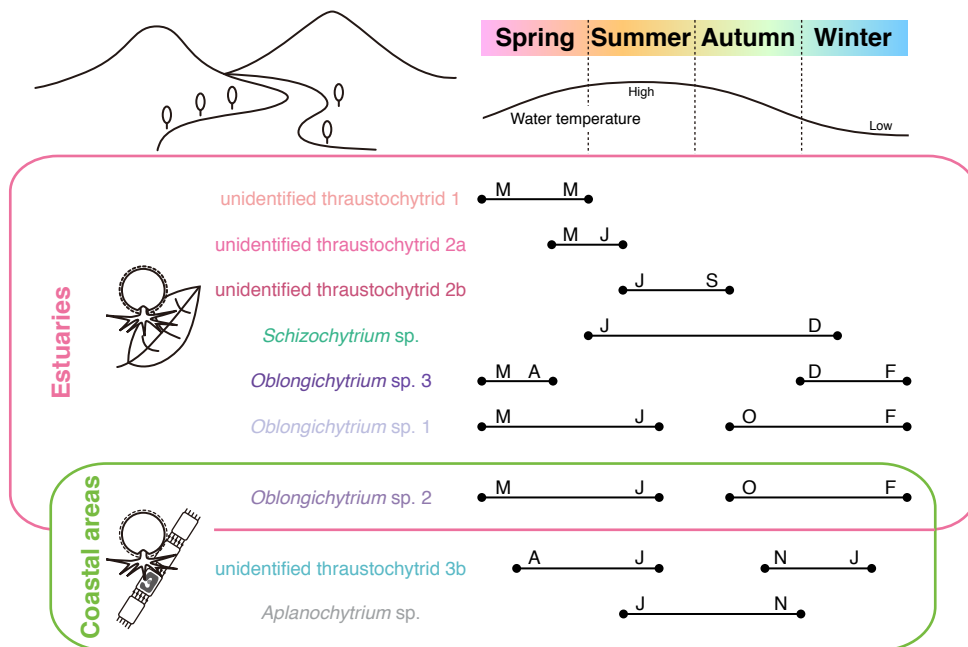


図 22 ヤブレットボカビ類の季節変動と多様性をまとめた概要図

ヤブレットボカビ類の主要系統群は、河口域と沿岸域といった場所による違いだけでなく、季節によっても棲み分けている可能性が考えられた。*Oblongichytrium* sp. 2 系統群は河口域と沿岸域の両方で主要系統群であった。*Oblongichytrium* sp. 2 系統群を除く河口域における主要系統群は、主に落葉などの陸起源有機物を栄養源としていることが考えられ、沿岸域における主要系統群は、主に死滅した珪藻などの海洋由来のデトライタスを栄養源としていることが考えられた。