

総 説

現生放散虫研究の手法と研究機器

松岡 篤*

Methods and research instruments for living radiolarian studies

Atsushi Matsuoka*

はじめに

筆者が現生放散虫の研究を始めたいと思い、ニューヨークの Anderson 博士のもとを訪ねたのは、1991年のことである。3ヶ月間のバルバドス滞在とその後のラモント・ドハティ地質研究所において、研究の手法を教えていただいた。帰国後、日本でも現生放散虫の研究を続けるために、国内で研究の適地をさがすとともに実験設備の充実をはかってきた。ようやく、実際に研究を開始する目途がたってきたので、現生放散虫に関心をもつ人たちを募って、ワークショップを企画した。毎年、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底実験所に出かけて開催しているので、このワークショップを“沖縄ツアー”とよんでいる。1997年に開始した“沖縄ツアー”は、2000年には第4回を数え、のべ参加人数は50人を越えた。

“沖縄ツアー”参加者からは、現生放散虫研究の適當な説明書を望む声が大きかった。これまでに原生生物の研究についての解説書は何冊か刊行されているが（たとえば、重中、1988），放散虫についてはほとんど取り扱っていない。最近、共立出版から発刊された「化石の研究法」では、放散虫の飼育実験について紹介したが（松岡、2000），紙幅の都合であまり詳しい記述ができない

かった。そこで、内容を飼育実験に限定せず、実験機器の解説や試料の採取方法も含め、現生放散虫研究に取り組みたいと考えている方々の参考となる手引き書を執筆することにした。新しいことを始めようとする場合、ちょっとしたコツがわからないために、ハードルがたいへん高く感じられることがある。小論では、ごく基礎的なこととなるべく丁寧に、また具体的に述べることに努め、ハードルが低く感じられよう工夫したつもりである。

本論は放散虫研究を主眼においてはいるが、試料採取から観察までのプロセスは、多くのプランクトン研究に共通するであろう。また、飼育実験についても似たような装置で実施可能であると思われる。適宜、対象とする生物群に読み替えていただきたい。現生放散虫の研究は、見よう見まねで始めたものであり、本格的な教育を受けた方からみれば、不十分・不適切と感じられる箇所もあると思われる。ご指摘をいただければありがたい。最後に、現生放散虫にかんする最近の研究成果を紹介し、今後の展望について述べる。

研究機器

現生放散虫の研究は鮮度のよい試料入手する必要性から、遠隔地の臨海実験所などで実施することになる。ここで紹介する研究機器は、出先の研究機関へ送付して利用することを前提としている。われわれの実験では、最初は段ボール箱で数個の荷物で間に合っていたが、最近では顕微鏡か

*新潟大学理学部地質科学科 Department of Geology,
Faculty of Science, Niigata University, Niigata 950-
2181, Japan

2001年8月20日受付, 2001年12月5日受理

ら飼育実験装置を含めて、10箱以上を送っている。備え付けタイプの機器が利用できる場合には、より使い勝手のよいものがあるに違いない。たとえば、飼育実験装置については、より便利なものが市販されているが、ここでは取り扱わない。以下に、個々の試料採取用具および観察・実験機器について述べる。

プランクトンネット

プランクトンネットは開口部の大きさ・形状、網の目の大きさ（目合い）、ネットの長さなど、さまざまな形式のものがある。作業上の取り扱いやすさや採取する試料の大きさによって最適のものを見つけるのが実際的である。これまでに、4つのネットを導入してきた（図1）。1号ネットが既製品であった以外は、それぞれのネットになにがしかの工夫が加えてある。

1号ネットは、開口部が直径20 cm、ネット長が0.5 m、目合いが $41 \mu\text{m}$ で、試料の取り出し口には回転式のコックがつき、開閉をおこなうよう

になっている。この小型のネットは、岸壁や突堤からでも手軽に使用できることから、プランクトンの生息状況を簡便に調査するには便利である。沖縄の瀬底島近海で最初に放散虫の生息状況を調査した際には、このネットを使用した（松岡、1993）。ただ、このタイプの回収部は流体の通り道が狭く、試料を取り出す際にプランクトンどうしが摩擦して細胞を傷つけてしまう可能性が大きいので、飼育実験用の試料を採取するには不向きである。

2号ネットは、開口部の直径が40 cm、ネット長が1 m、目合いが $44 \mu\text{m}$ で、回収部にはゴムの管がつけてあり、これをピンチコックでとめてある。当初このネットには、ゴム管ではなく、200 cc のポリ容器がねじ込み式で取り付けられていた。風の強い日に試料採取をおこなったときに、ねじ部の付根から下が水圧ではずれてしまい、その後、ゴム管に付け替えたという経緯がある。このネットは沖縄での試料採取に活躍したが、1999年の調査の際にロープの縛り方が不十分だったために海に流してしまい、今は瀬底島近海の海底にある。このときの教訓は、ナイロン製のロープは結び目が滑りやすいので注意が必要ということであった。

3号ネットは、開口部が $50 \text{ cm} \times 50 \text{ cm}$ の正方形で、ネット長が2 m、目合いが $44 \mu\text{m}$ である。回収部には金具により着脱ができる塩化ビニル製の筒が取り付けてある。試料を回収する際は、この筒に入ったプランクトンを海水ごと容器に移すことになる。筒の容量は約3 lあり、プランクトンにあまりダメージを与えずに回収することができる。ただ、容量が大きいのでひとりで扱うにはやや持て余す。開口部には濾水計が取り付けてあり、通過水量を測定できるようになっている。この3号ネットが現在主力として活躍している。

4号ネットは、開口部が直径30 cm、ネット長が1 m、目合いが $100 \mu\text{m}$ で、丸川式のネットの回収部を特注したものである。回収部は、3号ネットと同様に着脱式の筒が取り付けられている。3号ネットほど大きくなないので、筒の大きさも小型になっている。3号ネットからの改良点としては、筒部をアクリル製の透明な素材にし、内容物が見

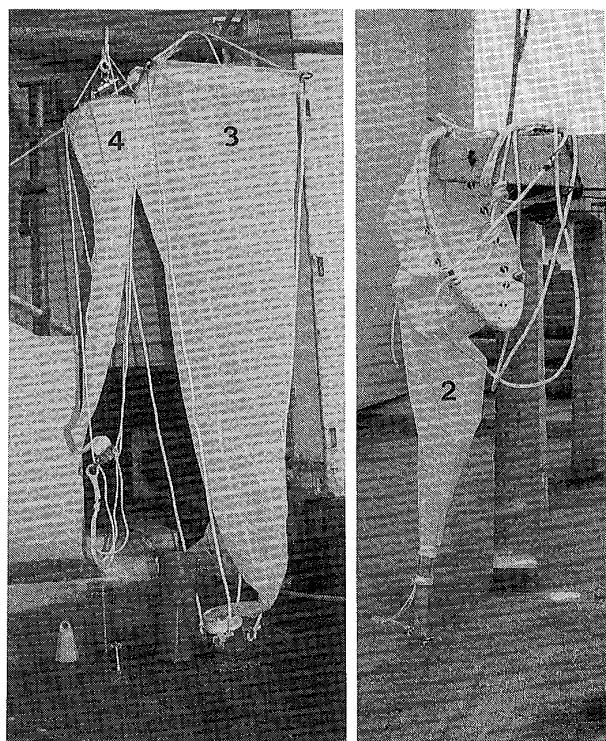


図1. プランクトンネット。ネット上の2～4の数字は、本文で示したネット番号に対応する。

えるようにしたことがあげられる。4号ネットは、メッセンジャーを使って任意の深さでネットの口を閉じることができるので、深度別のプランクトンの生息状況を調査する際にも使用できる。佐渡近海で水深100mのプランクトンの調査(Matsuoka *et al.*, 2001)に使用したのはこのネットである。

なお、ネットには船の大きさに見合ったサイズの上限がある。船自体の安全性が十分確保できる範囲で、ネットのサイズを決めなければならない。これまでの試行錯誤の結果、現在のラインナップとなっているが、まだ改良の余地はある。

実体顕微鏡

プランクトン試料から放散虫を取り出したり、別の容器に移し替えたりする作業は双眼実体顕微鏡を用いておこなう。放散虫は100μm以下の場合もあるので、できるだけ倍率の高い実体顕微鏡が望ましい。現在使用している機種はNikon SMZ-2Bで、接眼レンズに×15を用い、場合によっては鏡筒に×1.5の拡大レンズをついている。この拡大レンズには、×2のものもあるが、鏡筒と観察物との間の距離が短くなりすぎて作業がしづらくなる。

実体顕微鏡用の光源としては、ファイバータイプのものが必要である。白熱球で直に照らすタイプの光源は試料に熱を与えることになり、鮮度劣化を早めるので使用しないほうがよい。2分岐のファイバーを取り付ければ、2人あたり1台の光源があればよい。

倒立顕微鏡

放散虫は容器の底部にいることが多いので、底から観察するタイプの顕微鏡、すなわち倒立顕微鏡が必要である。現在、ニコン製のDIAPHOT-TMD(図2)とTMS-Fの2台の倒立顕微鏡を使用している。これらの顕微鏡で、40~400倍の倍率でプランクトンを観察することが可能である。DIAPHOT-TMDには、ニコン製のカメラを特別なマウントなしで直接装着することができる。また、Cマウントを介してCCDカメラ(FUJIXデジタルカメラHC-300Zi)を取り付け、デジタル

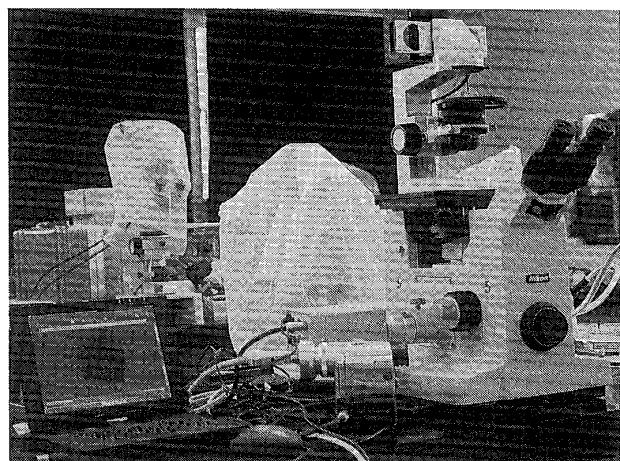


図2. 倒立顕微鏡。CCDカメラを介して、デジタルビデオ装置およびパソコンに接続されている。

ビデオの撮影やパソコンへの静止画像の取り込みができるようになっている。最近、3台目の倒立顕微鏡(ニコン製TE300)を新たに導入した。これには蛍光発生装置を取り付けており、共生藻類の研究に利用する予定である。

飼育実験装置

放散虫を単に生かしておくというだけなら、特別の装置はいらない。空調を施した部屋で飼育管なりシャーレなりに放散虫を入れて静置しておけばよい。しかし、何らかの環境因子と生存期間や成長との関係を調べるのなら、温度、光などを所定の条件に設定した環境で飼育する必要がある。われわれの飼育実験装置(図3)は、基本的にはAnderson *et al.*(1989)が示した装置と同じである。ただ、自然の状態と同じになるように、光を上方から与えるように改良している。また、運搬の便宜を考慮にいれて全体的に小型化させてある。

飼育実験装置は、恒温装置と照明装置とからなる。恒温装置は、ポリエチレンの容器に水を入れ、温度調節器(島津製ウォーターバスコントローラSBAC-11)と投げ込み式の冷却器(島津製ミニクーラSC-1SおよびSC-10S)とのバランスで所定の水温を得ている。放散虫が入った飼育管を試験管立てに入れてこの水槽につけるか、飼育シャー

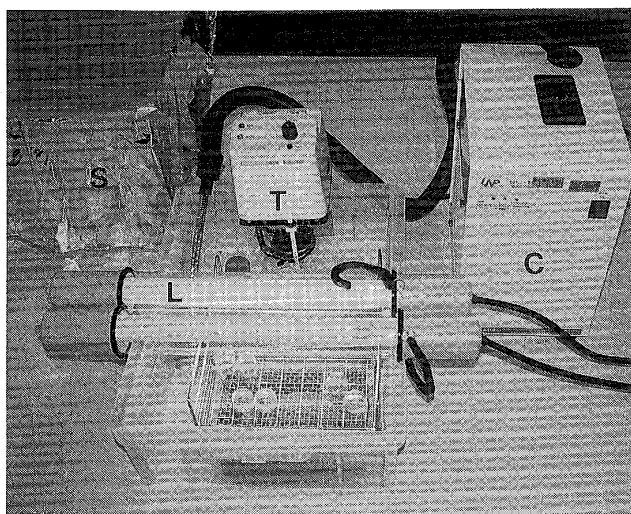


図3. 飼育実験装置。恒温装置は、温度調節装置 (T)，冷却器 (C) および照明装置 (L) からなる。夜間は、覆い (S) で暗環境をつくる。

レの底面がわずかに水槽に浸るように置いて、飼育海水の温度を調整している。この恒温装置で、摂氏5度程度までの低温を得ることができる。一方高温側は、100度近くまで上げることが可能である。このやり方は、大がかりな装置を必要としない点で優れている。ただ、この方法は飼育管を水につけるため、観察のたびごとに飼育管の水気をふき取るという手間がかかるところが難点である。なお、飼育水槽の水は蒸発が激しく、水道水を用いると沈殿物を生じることがある。このような場合には、蒸留水を使うようにしている。放散虫を入れる飼育容器としては、平底のガラス管(直径25 mm, 高さ100 mm)とプラスティック製の6穴シャーレを用いている。

照明装置としては、蛍光灯を使用している。実際に用いているのは、松下電工製の10Wの蛍光灯(YF11880)で、ランプは防水用のカバーで覆われている。蛍光灯2本を一組として、恒温水槽の上に置いている。光の強さは、距離を変えて調節する予定であるが、光量を変化させた実験はまだ実施していない。なお、夜間には人工光の影響を排除するために覆いをする。この覆いは、プラスチックの支柱と針金の留め金で骨格を作り、それにアルミホイルなどを張ったものである。

試料採取および観察・実験方法

試料採取

放散虫の採取は、基本的には船を使っておこなう。突堤や岩場などからネットを投入して試料採取を試みたこともあるが、研究に必要なだけの個体が確保できたことはない。ただ、佐渡の臨海実験所(新潟大学)付近の岩場からは、多数のAcanthariaを得たことがある。

これまでに、佐渡臨海実験所、琉球大学瀬底実験所、京都大学瀬戸実験所、千葉大学小湊実験所の実習船を利用させていただいた。実習船の操縦は実験所の技官にお願いすることになる。生態観察や飼育実験のためには鮮度のよい試料が必要なので、試料採取後、できるだけはやく放散虫の分離作業にかかるような段取りを考えなければならない。

試料採取にもっていくものは、プランクトンネット、サンプルを入れる容器、各種実験に使用する海水のためのタンク、温度計、クーラーボックス、冷却剤、GPS、筆記具などである(図4)。非常の際に備えて、水筒ぐらいはもっていった方がよいだろう。

放散虫は外洋水に多く生息していると予想され

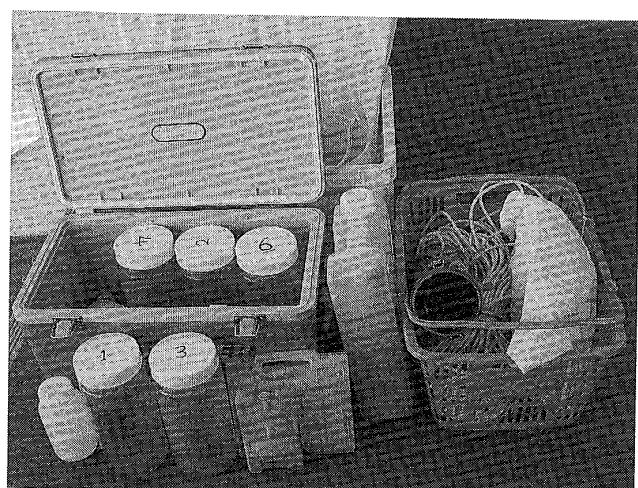


図4. 試料採取用具。プランクトンネット、海水用タンクおよびクーラーボックスなどを試料採取にもっていく。クーラーボックスのなかに、サンプル用容器、冷却剤を入れる。

るため、陸域から離れたなるべく水深の深いところでネットを曳くようにしている。船に魚群探知機が装備されている場合には、それから水深データを得ることができる。現場では、試料採取時刻、位置、海水温、天候、風向、波の高さなどを記録している。

次に、プランクトンネットの取り扱いについて述べる。北風なら、船は南に流されるので、ネットは北に向けて投入することになる。逆に投入してしまうと、ネットが船の下に潜り込みネットを痛める原因になるし、万一、スクリューに絡まるようなことがあれば、一大事である。ワインチを使用する場合には、通常、ネットの投入場所は船尾からとなる。この場合も風向きに注意して適切な船の向きを確認してから投入しなければならない。船からの排水の影響を受けないようにすることはもちろんであるが、船から剥奪した塗料のような異物が混入しないように気をつける。

ネットを曳く時間は、プランクトンの濃さによって調節する。通常は、3分間を目安としている。無風で、船がほとんど停止しているような場合やプランクトンが極端に薄い場合には、時間を長くしている。群集解析用の試料を採取する場合には、ネットに入ったプランクトンをすべて回収しなければならない。ネット自体にもプランクトンが付着するので、ネットを海水から引き上げる際に、手で丁寧にネットに海水をかけながら回収する。一方、飼育実験に使用する個体を採取する場合には、ネットに引っかかったり、何らかのダメージを受けた個体が極力混じらないように工夫する必要がある。飼育実験用の個体はとにかく鮮度が要求される。まず、群集解析用の試料を採取し、最後に、飼育実験用の試料を採取するなど、サンプリングの順序にも配慮しなければならない。

採取したプランクトン試料を入れる容器は、水洗した際の水道水が混じらないように、現場の海水で灌いでから用いる。飼育実験用のプランクトン試料が濃すぎる場合には、現場の海水を加えて希釈しておくと鮮度の低下をおさえることができる。採取したプランクトン試料は、冷却剤の入ったクーラーボックスに入れ、低温に保つ。試料採取が終わったら、ピンチコックを開いたり回収部

の筒をはずしたりした状態で、短時間ネットを曳いて海水で灌いだあと、ネットを撤収する。試料採取の現場で、その後の実験に必要な量の海水も採取する。必要量は実験の種類によって異なるが、通常は3～5Lを確保している。海水の採取は、船からの汚染物質の影響を避けるために、風下側でおこなう。

分離作業

プランクトン試料のなかに含まれる放散虫の割合は一般にかなり低い。各種のプランクトンに、少数の放散虫が紛れているという状況である。実験に供する放散虫は雑多なプランクトンから分離して得ることになる。この分離作業は、試料採取後できるだけすみやかにおこなう必要がある。時間がたつにつれてプランクトンが弱っていくさまは、一度、この拾い上げの作業を体験すると実感できる。

研究施設に戻ったら、一刻も早く、放散虫の分離作業にかかるよう準備する。プランクトンサンプルが入った容器についた海水を洗い流したのち、机の上などに静置する。放散虫は容器の底に沈んでいることが多いので、下部の1/5程度を残して海水を捨てる。容器に残ったプランクトン試料を適量ずつシャーレに移して、拾い上げの作業に入る。放散虫のピックアップ作業は、双眼実体顕微鏡の下でパストールピペットを用いておこなう。なるべく放散虫以外の生物を吸い込まないように注意する。小型の放散虫を拾い上げる際には、ピペットをガスバーナーで熱して引き延ばし、口径の小さなピペットを用意しておくとよい。との作業のことを考えれば、ある程度、分類をおこないながら試料を確保するのが効率的である。通常は、6穴のプラスチックシャーレに大まかな分類をしながら入れている。なお、この作業で用いる容器やピペットなども、試料採取場所で確保した海水で灌いでから使用する。再度強調するが、この作業は、ともかく時間との勝負である。飼育実験に使用する個体を得る場合には、1時間以内にこの作業を終えるようにしている。

観察方法

通常は、前述した倒立顕微鏡で観察をおこなうことになる。放散虫が容器の中層に浮いているときには、倒立顕微鏡では放散虫の所在をとらえにくい。このような場合は、実体顕微鏡で放散虫の位置を確認してから、再び倒立顕微鏡観察に切り替えることがある。したがって、倒立顕微鏡と実体顕微鏡は並べて置いておくと便利である。なお、倒立顕微鏡の作動範囲を越えて浮遊している場合には、対象物を観察することができない。

顕微鏡観察に際しては、放散虫の入った飼育管なりシャーレなりを観察の都度、ステージに載せることになる。注意する必要があるのは、ステージに移す際に放散虫に振動を与えてしまい、それによって特別な行動を取らせる可能性があるということである。何種類かの放散虫は、逃避行動のひとつとして、仮足をすべて引っ込めるという反応を示す場合がある。この際、仮足に付着させていた共生生物を一斉に殻内に取り込んでしまったりする。したがって、ステージに載せた直後には特殊な状態ばかりを示していることになる。このような現象は、多かれ少なかれ、多くの放散虫に当たはまるのではないかと思われる。より自然な放散虫の生態を把握するためには、容器を顕微鏡のステージに載せたあと、しばらく待ってから観察する必要がある。

飼育実験

飼育実験には、プランクトン試料から一時的に別のシャーレに移した個体を利用する。シャーレの中には、ある程度分類された複数個体が確保されているので、飼育用にはここから適した個体をもう一度、別の容器に移し替えることになる。この移し替えの際にも、放散虫を痛めないように、できるだけ穏やかにおこなう必要がある。急激にピペットに吸い込んだり、放出したりすることは禁物である。この作業は、双眼実体顕微鏡で観察しながらおこなう。なお、のちの観察のことを考えて、飼育管には1個体ずつを入れるようにしている。1つの飼育管に同種の複数個体を入れた場合、それらが成長した際に個体識別が困難になることは容易に想像できる。

飼育用に用いる海水は、試料採取地点で確保した天然海水を使用している。現在のところ、飼育実験の途中に海水を入れ替えるような操作はおこなっていない。海水の塩分の測定には、塩分濃度屈折計を使用している。飼育環境を良好な状態に保つことは、飼育実験を成功させるうえで本質的なことなので、どのような海水が飼育に適しているのかを、調査する必要がある。なお、飼育管を用いる場合には、水の蒸発や異物の混入を防ぐために、上部をパラフィンフィルムで覆っている。

温度や塩分など各種の耐性実験には、統計的な取り扱いが必要である。各種耐性実験をおこなう際には、実験装置を2組以上設置し、実験群とコントロール群に分けておこなうことになる。この振り分けの際には、サイズ分布などに人為的な操作による偏りが生じないようにしなければならない。個々の飼育個体には、それぞれID番号を与えて記録することにしている。われわれの実験では、専用の記録用紙を作成して、データをとっている。記録用紙には、ID番号、種名、採取日、飼育条件（温度、塩分、光度および明暗サイクル）を記入するとともに、日々の観察事項としては、殻のサイズ、浮遊姿勢、仮足の長さ、色、共生藻類の有無などをとりあげている。観察項目は、放散虫の種や飼育目的の違いによって、当然、異なってくる。なお、日数の数え方は、試料採取日を第0日とし、翌日を第1日とするようなやり方をとっている。画像データは、フィルムを用いた写真、デジタルの動画、デジタル静止画像の3種類のメディアとして残している。デジタル静止画像には、撮影日、ID番号、飼育期間、倍率、記録者が特定できるようなファイル名を付けている。

最近の研究成果と今後の展望

放散虫の化石や遺骸を取り扱う研究者の数に比べて、放散虫の生体とかかわりをもつ研究者の数は世界的に少なく、生き物としての放散虫にかんする論文は多いとはいえない。ここでは、放散虫の生物学的側面に注目しておこなわれた1990年以降の研究に限定し、主要な成果について述べる。それらは、Anderson自身や、筆者を含めてAndersonの流れをくむ研究者による成果なので、

試料採取や観察の方法については本論で紹介したやり方が基本的にとられている。最後に、現在取り組まれている研究テーマについて紹介するとともに、今後の方向性についても触れてみたい。

Matsuoka (1992) は、バルバドス近海で採取した *Dictyocoryne truncatum* について飼育実験をおこない、殻成長についての成長曲線を描いた。また、同種について温度および塩分耐性実験を実施し、現在の海洋での分布が温度耐性に関係していることなどを明らかにした (Matsuoka and Anderson, 1992)。さらに、Anderson and Matsuoka (1992) は、*D. truncatum* の共生生物について報告した。Sugiyama and Anderson (1997a) は、シリカを添加した海水で、*Spongaster tetras* と *D. truncatum* を飼育し、生存期間および殻重量の増加について検討した。Sugiyama and Anderson (1997b) は *Eucyrtidium hexagonatum*, *Pterocorys zancleus* および *Spirocyrts scalaris* について、さらに、Sugiyama and Anderson (1998a) は Spyrida について超薄片および生体の観察をおこない、*Nasseillaria* の細胞微細組織を明らかにした。また、Sugiyama and Anderson (1998b) は、*Didymocyrtis tetrathalamus* の個体発生とともに殻成長について記載するとともに、細胞微細組織および共生藻類にかんする知見を増やした。Anderson et al. (1998) は、*Tetrapetalon elegans* の細胞微細組織および殻構造について検討し、*Spumellaria* の系統分類について考察した。Anderson et al. (1999) は、群体 *Spumellaria*, *Collozoum serpentinum* の細胞微細組織を検討し、*Collophidium* 属を再認定した。Amarel Zettler et al. (1999) は、群体 *Spumellaria* グループの分子生物学的検討をおこない、同グループの系統関係を論じた。Suzuki and Sugiyama (2001) は、*Diplosphaera hexagonalis* の飼育実験をおこない、有軸仮足が周期的な伸張一収縮運動を繰り返すことを報告するとともに、同種の分類上の位置について議論した。

2000年9月にアメリカ合衆国カリフォルニア州で開催された第9回国際放散虫研究集会 (9th InterRad) では、生きている放散虫をテーマと

した3件の発表があった。それらは以下に述べるように、いずれも日本人研究者によるものであった。Matsuoka et al. (2000) は、“沖縄ツアーハウス”の模様を紹介するとともに、現生放散虫研究の現状について報告した。沖縄近海で採取した放散虫の生態を収録したビデオ映像 (Hori et al., 2000) は、多くの参加者を魅了した。Takahashi et al. (2000) は、放散虫から分離した共生藻類を培養し、それらが珪藻であることを突き止めた。

以上に述べたように、1990年代以降、何人の日本人研究者が現生放散虫の研究に参加し、とくにここ数年、学術的な貢献が大きくなりはじめてきたことがわかる。このことは、わが国で現生放散虫の研究が根付いてきたことを裏付けている。試料を採取する海域も沖縄近海だけではなく、伊豆半島周辺海域 (Sashida and Uematsu, 1994; Sashida and Kurihara, 1999) や佐渡島近海 (Matsuoka et al., 2001) へと広がっている。現在進行中の研究テーマとしては、捕食や逃避を含む放散虫の行動についての研究、飼育実験による殻成長や温度耐性にかんする研究、藻類との共生関係についての研究などがあげられる。さらに、放散虫の分子生物学的な検討も開始され、その成果が注目されている。これまで、現生放散虫の研究は熱帯や亜熱帯の表層海水に生息する放散虫に偏っていたが、日本周辺では冷水域に生息する放散虫を採取することができるので、今後は、冷水域の放散虫をも研究対象とすることが可能となる。佐渡近海での検討では、低温の中層水にも放散虫が生息していることを確認している。前述したように、現在、現生放散虫の研究に取り組んでいる研究者は世界的にたいへん少ない。わが国において現生放散虫の研究を推進していくことに大きな期待が寄せられている。

おわりに

この10年間の筆者自身の現生放散虫研究は、準備期間であった感が強い。実験機器の調達を含めた研究環境の整備と研究適地の探索に費やされた。ようやくこれから本格的研究を開始するスタート地点に立った気持ちである。新潟大学佐渡臨海実験所に新しい実習船が配備されたことも、われ

われの研究を活性化させるうえでの追い風となっている。筆者自身のスタンスは地質時代の海洋環境の復元を目指しての現生放散虫研究であるが、その方向性は多様であってよい。生態学、生理学、細胞学、系統分類学、進化学、分子生物学など、いずれの方向の研究も、直接的・間接的に古海洋の理解を深めることに繋がっていくだろう。多くの人たち、とりわけ21世紀の研究を担う若い世代の方々が、現生放散虫の研究に関心をもち、斬新な研究テーマを発掘していってくれることを願っている。なお、今後も“沖縄ツア”あるいは“佐渡ツア”を企画する予定なので、興味のある方はぜひ参加していただきたい。

謝 辞

ラモント・ドハティ地球研究所のO. R. Anderson博士には、現生放散虫研究の開始にあたり、数々のご教示をたまわった。P. Bennette氏には、バルバドスで試料採取および飼育実験の手ほどきを受けた。カリブ海での研究では、バルバドスのベラーズ研究所のスタッフから支援を受けた。国内では、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底実験所、新潟大学佐渡臨海実験所、京都大学瀬戸臨海実験所、千葉大学小湊臨海実験所のスタッフにお世話になった。とりわけ、試料採取に際しては、技官の方々のご協力をあおいだ。研究費については、平成3年度の文部省科学研究費補助金（課題番号04854089、代表：松岡篤）および平成7～8年度の藤原ナチュラルヒストリーフィンク財団学術助成金を使用した。以上の方々ならびに関係機関に対し心から謝意を表する。

文 献

- Amaral Zettler, L., Anderson, O. R. and Caron, D. A., 1999. Towards a molecular phylogeny of colonial spumellarian radiolaria. *Mar. Micropaleontol.*, **36**, 67–79.
- Anderson, O. R., Bennett, P. and Bryan, M., 1989. Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology, 3: Effects of temperature, salinity and light intensity on the growth and survival of *Spongaster tetras tetras* maintained in laboratory culture. *Mar. Micropaleontol.*, **14**,

275–282.

- Anderson, O. R., Danelian, T. and Langdon, C., 1998. Cytoplasmic and shell fine structure of *Tetrapetalon elegans* (Polycystinea) and comparisons to *Hexacontium* spp. with implications for phylogeny and taxonomy of the Spumellarida. *Mar. Micropaleontol.*, **33**, 299–307.
- Anderson, O. R., Gastrich, M. D. and Amaral Zettler, L., 1999. Fine structure of the colonial radiolarian *Collozoum serpentinum* (Polycystinea: Spumellaria) with a reconsideration of its taxonomic status and re-establishment of the genus *Collophidium* (Haeckel). *Mar. Micropaleontol.*, **36**, 81–89.
- Anderson, O. R. and Matsuoka, A., 1992. Endocyttoplasmic microalgae and bacteroids within the central capsule of the radiolarian *Dictyocoryne truncatum*. *Symbiosis*, **12**, 237–247.
- Hori, R. S. and participants of the 2nd observation tour of living radiolarian at Sesoko, 2000. A video presentation of living radiolaria from the Kuroshio Current near Okinawa Island, Japan. Program with abstracts, 9th Meeting of the International Association of Radiolarian Paleontologists, Blairsden, California, U.S.A., 36.
- Matsuoka, A., 1992. Skeletal growth of a spongoise radiolarian *Dictyocoryne truncatum* in laboratory culture. *Mar. Micropaleontol.*, **19**, 287–297.
- 松岡 篤, 1993. 沖縄県瀬底島周辺海域の現生放散虫。化石, (54), 1–9。
- 松岡 篤, 2000. 飼育実験: 放散虫類。化石研究会編, 化石の研究法 採集から最新の解析法まで。共立出版, 361–362。
- Matsuoka, A. and Anderson, O. R., 1992. Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology, 5. Temperature and salinity tolerance of *Dictyocoryne truncatum*. *Mar. Micropaleontol.*, **19**, 299–313.
- Matsuoka, A., Yoshida, K., Hasegawa, S., Shinzawa, M., Tamura, K., Sakamoto, T., Yabe, H., Niikawa, I. and Tateishi, M., 2001. Temperature profile and radiolarian fauna in surface waters off Tassha, Aikawa Town, Sado Island, central Japan. *Sci. Rep., Niigata Univ., Ser. E. (Geology)*, (16), 83–93.
- Matsuoka, A. and participants of Okinawa Workshops, 2000. Current activities of living radiolarian research. Program with abstracts, 9th Meeting of the International Association of Radiolarian Paleontologists, Blairsden, California, U.S.A., 49.

- Sashida, K. and Kurihara, T., 1999. Recent radiolarian faunas in the surface water off the coast of Shimoda, Izu Peninsula, Japan. *Sci. Rep. Inst. Geosci., Univ. Tsukuba, Ser. B (Geol. Sci.)*, **20**, 115-144.
- Sashida, K. and Uematsu, H., 1994. Living radiolaria in the surface water off the coast of Shimoda, Izu Peninsula, Japan. *Ann. Rep., Inst. Geosci., Univ. Tsukuba*, (20). 39-44.
- 重中嘉信, 1988. 原生動物の観察と実験法. 共立出版, 259p.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R., 1997a. Experimental and observational studies of radiolarian physiological ecology, 6. Effects of silicate-supplemented seawater on the longevity and weight gain of spongiose radiolarians *Spongaster tetras* and *Dictyocoryne truncatum*. *Mar. Micropaleontol.*, **29**, 159-172.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R., 1997b. Correlated fine structural and light microscopic analyses of living nassellarian *Eucyrtidium hexagonatum* Haeckel, *Pterocorys zanclerus* (Müller) and *Spirocyclitis scalaris* Haeckel. *NOM Spec Publ.*, (10), 311-337.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R., 1998a. The fine structures of some living Spyrida (Nassellaria, Radiolaria) and their implications for nassellarian classification. *Paleontological Research*, **2**, 77-88.
- Sugiyama, K. and Anderson, O. R., 1998b. Cytoplasmic organization and symbiotic associations of *Didymocyrtis tetrathalamus* (Haeckel) (Spumellaria, Radiolaria). *Micropaleontology*, **44**, 277-289.
- Suzuki, N. and Sugiyama, K., 2001. Regular axopodial activity of *Diplosphaera hexagonalis* Haeckel (spheroidal spumellarian, Radiolaria). *Paleontological Research*, **5**, 131-140.
- Takahashi, O., Kuriyama, A. and Mayama, S., 2000. Endosymbiotic diatoms in Radiolaria. Program with abstracts, 9th Meeting of the International Association of Radiolarian Paleontologists, Blairsden, California, U.S.A., 64.