

【報 文】

ホソメコンブ配偶体の生長に及ぼす硝酸塩の影響

川井 唯史*¹・岡 直宏*² 平岡 雅規*³
四ツ倉 典滋*⁴・中明 幸広*¹Effects on Nitrate on the Growth of Gametophytes of
*Laminaria religiosa*Tadashi KAWAI*¹, Naohiro OKA*² Masanori HIRAOKA*³,
Norishige YOTSUKURA*⁴ and Yukihiro NAKAME*¹

Abstract

Yearly changes of concentration of nitrate and phosphate in Tomari, Hokkaido, Japan, from 1986 to 2001, were analyzed. Mean concentration of nitrate at 0m depth was $2.2 \pm 1.6SD$ (range, 0.3-6.1) μM . Gametophytes of *Laminaria religiosa* were cultured for 29 days in different nitrate concentrations (+0.0, +1.0, +2.0, +3.0, +4.0, +5.0, +6.0 μM) in order to examine the effects of nitrate on the growth of gametophytes in batch culture. Cell number of the gametophytes increased at concentrations of more than +4.0 μM nitrate. To observe the effects of deep seawater on growth of gametophytes of *L. religiosa*, the gametophytes were cultured in deep seawater at Otaru, Hokkaido, Japan, (concentration of nitrate, 15.8 μM) and in surface seawater at Yoichi, Hokkaido, (mean concentration of nitrate, 4.4 μM) under laboratory conditions. After 29 days from start of batch culture, cell number in the deep seawater was 2.6 times of the cell number in surface seawater.

1. はじめに

北海道日本海南西部に位置する岩内町は2003年から海洋深層水の汲み上げを予定し、その水産利用を模索している。岩内町の周辺沿岸で、ホソメコンブ *Laminaria religiosa* を主にウニ類の餌として利用し、一部では1~2月に全長30cm程度の藻体を食用としている。そして岩内町ではホソメコンブの増養殖に海洋深層水を何らかの形で有効利用する可能性を検討している。ホソメコンブとは主に北海道日本海南西部等に分布する1年生の海藻である。その生活環として、通常は子囊班が発達した母藻から11月に大きさ約9 μM の遊走子が放出され、これが着底し、12月には配偶体を形成し、配偶体が成熟して卵と精子を形成して受精したものが1月には孢子体と

して出現し、これらが生長して3月には群落を形成する¹⁾。

ホソメコンブの生長等に対する海洋深層水の影響に関する知見としては、海洋深層水で培養すると幼孢子体の生長が著しく促進されることが確かめられている²⁾。しかし他の知見は乏しく、海洋深層水をホソメコンブの増養殖に有効に活用するための基礎知見が不足している。そこで本研究では岩内近郊での、硝酸塩とリン酸塩濃度の調査期間における平均値と年変動を解析し、次に硝酸塩濃度の平均値とその上下の濃度においてホソメコンブの配偶体の生長と硝酸塩濃度の関係を求め、海洋深層水と表層水で配偶体の生長を比較した。

2. 材料と方法

1) 泊村地先の硝酸塩とリン酸塩

2003年6月16日受付, 2003年10月17日受理

キーワード: ホソメコンブ, 配偶体, 生長, 硝酸塩, 海洋深層水

Key words: *Laminaria religiosa*, Gametophyte, Growth, Nitrate, Deep seawater

*¹ Hokkaido Nuclear Energy Environmental Research Center, 261-1 Miyaoka, Kyowa, Hokkaido 045-0123, Japan (北海道原子力環境センター 〒045-0123 北海道共和町宮丘261-1)

*² Department of Agriculture, Ehime University, 3-5-7 Taruaji, Matsuyama, Ehime Prefecture 790-8566, Japan (愛媛大学農学部 〒790-8566 愛媛県松山市樽味3-5-7)

*³ Kochi Prefectural Deep Seawater Laboratory, 7156 Maruyama, Murotomisaki, Muroto, Kochi Prefecture 781-7101, Japan (高知県海洋深層水研究所 〒781-7101 高知県室戸市室戸岬町7156)

*⁴ Field Science Center for Northern Biosphere, Hokkaido University, Muroran, Hokkaido 051-0003, Japan (北海道大学北方生物圏フィールド科学センター 〒051-0003 北海道室蘭市母恋南町1-13)

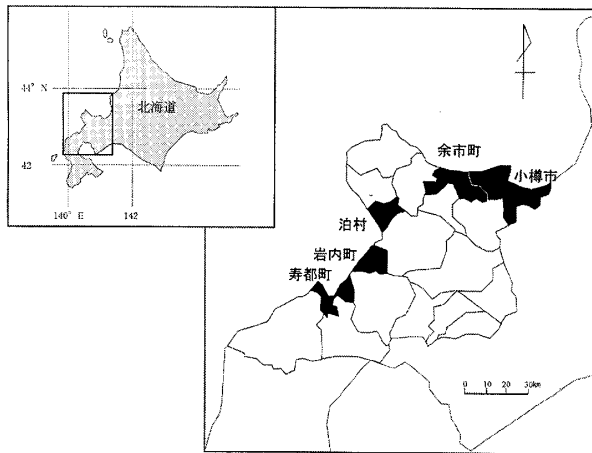


図-1 調査地点.

岩内町に隣接する泊村(図-1)では, その沿岸(距岸100~2000m)で1986年11月以降四半期毎に水質調査が行われている³⁾。この調査結果のうち, 1986年~2001年の11月(1996年と2001年は12月)における表層(水深0.5m)と5m層の硝酸塩およびリン酸塩濃度の測定データを解析し, 調査期間における平均値と年変動の範囲を求めた。なお硝酸塩とリン酸塩濃度の分析には(株)ブラウン・ルーベの自動分析装置(オートアナライザーII型)等を利用した。

2) 生長と硝酸塩濃度の関係

ホソメコンブの配偶体は, 次のようにして得た。北海道日本海南西部に位置する寿都町(図-1)で採取した母藻を滅菌海水で洗浄した後に紙で包んで冷暗所で一晩置き, その後に母藻を滅菌海水に入れて遊走子を放出させた。次に遊走子が放出された海水を滅菌したピペットですくい, これを別の滅菌海水に入れる作業を3回繰り返して珪藻等の混入を防いで, 遊走子を単離した。最後に, 遊走子を単離した滅菌海水を7個の透明な細胞培養フラスコ(Corning製, 容量200ml, 培養面積75cm²)に分注し, 遊走子を培養面に着底させた。培養に利用した海水は, 2000年9月に沖縄沖の表層で採水した。これは黒潮の上流域で採水することで窒素分が非常に乏しい天然海水を得ることを目的としており, 全窒素濃度は0.2μMであった。これに硝酸カリを濃度別に加えて硝酸塩濃度が1μM毎の濃度段階(+0.0, +1.0, +2.0, +3.0, +4.0, +5.0, +6.0μM)になるように培養水を作成した。7段階の硝酸塩濃度の培養水は遊走子を単離した7個の細胞培養用フラスコにそれぞれ入れられた。また培養には窒素分を入れないPESI⁴⁾を添加し, 窒素以外の栄養分を十分にした。海水の交換は1~2回/週とし, 硝酸塩濃度を一定に保った。なお作成した培養水を任意に1~2本抽出して, 硝酸塩濃度を測定し, 硝酸塩濃度が設定した濃度になっていることを確かめた。硝酸塩の測定には前述の自動分析装置を利用した。また培養は(株)サンヨーの

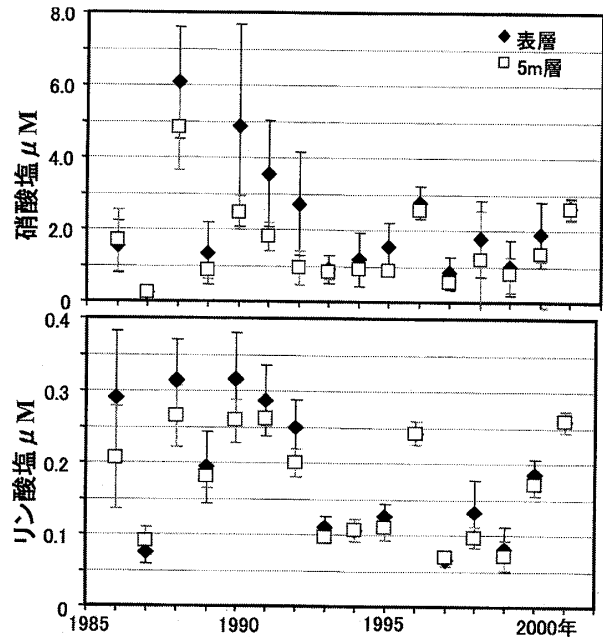


図-2 北海道日本海南西部泊村地先の11~12月における硝酸塩とリン酸塩濃度の推移。10定点の平均と標準偏差を示す。

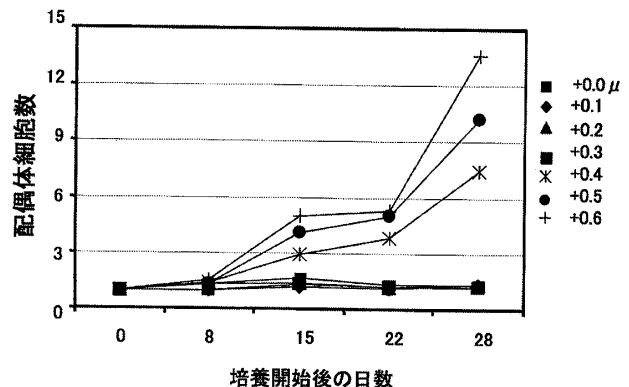


図-3 硝酸塩濃度別に培養したホソメコンブ配偶体細胞数の推移。

インキュベーターMIR552を利用して, 水温は10℃, 光は20μmol m⁻² S⁻¹, 明12:暗12に設定した。細胞培養フラスコ培養は震盪培養装置(株)タイテックNR-30を利用して緩やかに(最小目盛りで)震盪させた。培養は1999年12月1日から29日にかけて行ない, 一つの遊走子由来する雌性配偶体, 雄性配偶体各6つについて7日毎に細胞数を計数して平均を求めた。なお培養の期間はMizuta et al⁵⁾が約1ヶ月間培養していることを参考にし, 29日間とした。

3) 海洋深層水の影響

海洋深層水区と表層水区を設けて培養を行なった。海洋深層水は, 1999年8月15日に岩内町と同じ後志管内に位置する小樽市(図-1)の沖合, 深度300mで採取したものを-20℃で凍結し, これを培養水として利用する直前毎に解凍して実験に利用した。表層水は小樽市に隣接する余市町(図-1)の表層水を毎週採取して培養水として利用した。硝酸塩濃度は, 海洋深層水で15.8μM

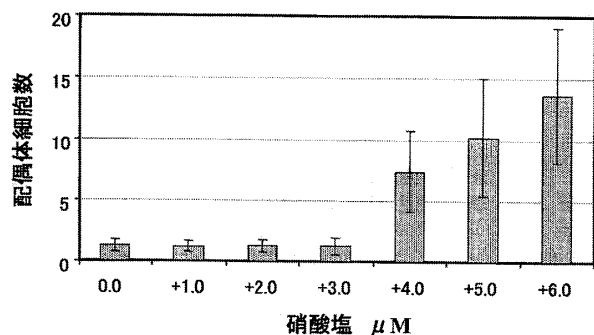


図-4 硝酸塩濃度別のホソメコンブ配偶体細胞数. 培養開始から29日後の細胞数で, 縦棒は標準偏差を示す.

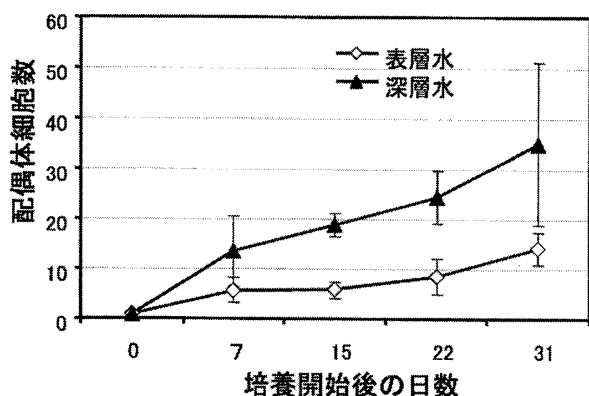


図-5 海洋深層水と表層水で培養したホソメコンブ配偶体の細胞数の推移. 縦棒は標準偏差を示す.

であった。また培養に用いた表層水の硝酸塩濃度を毎週測定し, その濃度は平均 4.4 ± 1.8 SD (範囲 $2.2 \sim 6.6$) μM であった。培養水の製法以外の培養条件, 硝酸塩濃度の測定は2) 生長と硝酸塩濃度の関係と同様にした。培養期間はMizuta et al⁵⁾ が約1ヶ月間培養していることを参考にして1999年12月28日から2000年1月25日までの29日間とした。培養期間中は一つの遊走子に由来する雌性配偶体, 雄性配偶体各6つについて7日毎に細胞数を計数して平均を求めた。

3. 結 果

1) 泊村地先の硝酸塩とリン酸塩

硝酸塩濃度は表層が平均 2.2 ± 1.6 (SD), 範囲 $0.3 \sim 6.1$ μM , 5m層が平均 1.5 ± 1.1 , 範囲 $0.2 \sim 4.8$ μM であった(図-2上段)。両層の推移は同様であり, 表層は1988年の $6.1 \mu\text{M}$ をピークとして, 1990~1993年にかけて減少し, その後は $0.8 \sim 2.8 \mu\text{M}$ の範囲を推移した。

2) 生長と硝酸塩濃度の関係

硝酸塩濃度が $+4.0 \mu\text{M}$ 以上の試験区では細胞数の増加が見られたが, これ未満の硝酸塩濃度の試験区では細胞数の増大が観察されなかった(図-3)。培養最終日における配偶体の平均細胞数は $+4.0 \mu\text{M}$ で平均 7.4 ± 3.3 SD (範囲 $1.0 \sim 12.0$), $+5.0 \mu\text{M}$ で 10.2 ± 4.8 ($4.0 \sim 18.0$), $+6.0$

μM で 13.6 ± 5.5 ($4.0 \sim 20.0$) となり, 硝酸塩濃度が上昇するに伴い細胞数が増える傾向があった(図-4)。しかし硝酸塩濃度が $+3.0 \mu\text{M}$ 以下の試験区では, $+0.0 \mu\text{M}$ が 1.3 ± 0.5 ($1.0 \sim 2.0$), $+1.0 \mu\text{M}$ が 1.2 ± 0.4 ($1.0 \sim 2.0$), $+2.0 \mu\text{M}$ が 1.3 ± 0.5 ($1.0 \sim 2.0$), $+3.0 \mu\text{M}$ が 1.3 ± 0.7 ($1.0 \sim 3.0$) で, 平均細胞数がいずれも1.3以下で, 培養開始時の細胞数である1細胞から0.2~0.3しか増加していない。なお $+3.0 \mu\text{M}$ 以下の硝酸塩濃度で培養した配偶体で生長は見られなかったが, 多くの細胞は生存していた。

3) 海洋深層水の影響

海洋深層水で培養したホソメコンブ配偶体の平均細胞数は表層水で培養した配偶体の細胞数を上回って推移した(図-5)。また 培養最終日の平均細胞数は表層水区が平均 14.1 ± 3.3 SD (範囲 $9.0 \sim 18.0$), 海洋深層水区が 35.0 ± 16.1 ($17.0 \sim 62.0$) であった。培養期間におけるホソメコンブ配偶体細胞数の増加 (培養最終日の平均細胞数-培養開始日の遊走子に由来する細胞数, 1.0細胞) を海洋深層水区と表層水区で比較すると, 前者は後者の2.6倍であった。

4. 考 察

室内培養条件下において, ホソメコンブ配偶体の生長に対する硝酸塩濃度の閾値は $3.1 \sim 4.0 \mu\text{M}$ の範囲に存在すると思われる。Mizuta et al⁵⁾ はホソメコンブ配偶体の生長に対する硝酸塩濃度の影響等を調べるため, 硝酸塩濃度別 ($0.0, 0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0, 100.0 \mu\text{M}$) で1細胞からの培養を行い, 26日後に, $1.0 \mu\text{M}$ 以下では1細胞からの生長が見られず, $5.0 \mu\text{M}$ 以上で数細胞への生長が認められ, 生長に最低必要な硝酸塩濃度が $1.1 \sim 5.0 \mu\text{M}$ の範囲に存在することを明らかにした。この実験は本実験と異なり, 硝酸塩濃度の段階設定をホソメコンブの分布域における配偶体形成時期の濃度付近に設定したものではなかったが, 本研究の結果と整合性がある。またホソメコンブ配偶体の生長にはリン酸塩濃度が影響する⁵⁾。そしてリン酸塩濃度は年変動を示すことが明らかなので(図-2下段), 今後は当該海域の配偶体形成時期におけるリン酸塩濃度がその生長にとって十分か等も検討する必要があるだろう。加えて本研究では無機態窒素であるアンモニア, 亜硝酸塩, 硝酸塩の中で, 硝酸塩だけに注目している。そのため前2者における濃度の経年変動を明らかにし, それらの濃度の違いがホソメコンブ配偶体の生長に与える影響等も検討するのが好ましいだろう。さらに海藻類の栄養塩摂取は流速に影響され⁶⁾, ホソメコンブの配偶体の生長には光量, 温度も影響することが確かめられている⁵⁾。そこで流速等の諸条件を変えてホソメコンブ配偶体の生長に対する硝酸塩濃度の閾値を求める必要があるだろう。

今回の海洋深層水との比較の実験で利用した表層水の硝酸塩濃度は平均 $4.4\mu\text{M}$ であり、配偶体の生長に最低必要な硝酸塩濃度と推定される $3.1\sim 4.0\mu\text{M}$ を約 $0.4\mu\text{M}$ 上回ったにすぎない。そのため泊村(図-1)地先の11月における硝酸塩濃度は、ホソメコンブ配偶体の生長にとって不足していると考えられる。ただし西浜⁷⁾は泊村近隣の寿都町(図-1)において毎月約1回の栄養塩観測を行い、硝酸塩濃度は10月下旬から上昇し、3月上旬に極大値を示すことを明らかにした。同様に中多ら⁸⁾は泊村近郊に位置する小樽市(図-1)において硝酸塩濃度の推移を観測し、当海域の濃度は10月から1月にかけて上昇することを示した。そのため泊村地先においても硝酸塩濃度は12月以降に上昇していると考えられ、12月以降は硝酸塩濃度がホソメコンブ配偶体の生長にとって十分な濃度である可能性がある。また泊村地先の硝酸塩濃度は年変動を示すことが明らかである(図-2)。そのため11月であっても硝酸塩濃度が高めに推移する年では不足していない可能性もある。

硝酸塩とリン酸塩濃度の解析結果、両者とも年変動していることが確かめられた。同様な年変動は小樽市での調査結果でも報告されている⁸⁾。今後は年変動の機構を明確にするために、栄養塩と同日に採水した水温や塩分の結果を添付して解析するのが望まれる。

実験で利用した海洋深層水の硝酸塩濃度は $15.8\mu\text{M}$ で、必要な濃度と推定された $3.1\sim 4.0\mu\text{M}$ の約4.5倍である。本実験において海洋深層水で培養したホソメコンブ配偶体の生長が表層水のそれを上回った理由の一つは、海洋深層水が硝酸塩を豊富に含んでいたためと考えられる。ただし、海洋深層水と表層水の差異は硝酸塩の濃度だけではない。硝酸塩以外のリン酸塩等の栄養塩濃度が高い等の各種の性状が異なっている⁹⁾。本実験は海洋深層水が有する各種の特性のうち硝酸塩濃度の要因だけに注目して、しかもホソメコンブの生活環の極一部を対象にして行った。今後はホソメコンブの生活環すべての段階における生長や、配偶体と孢子体の成熟等において海洋深層水の表層水との違いを比較することとし、加えて水温、各種栄養塩等の種々の条件がホソメコンブの生長や成熟に与える影響もより詳細に調べるのが、海洋深層水の有効利用を検討するための基礎知見が十分に得られ、好ましいだろう。

岩内町(図-1)近隣沿岸の11月における表層の硝酸塩濃度は、ホソメコンブ配偶体の室内培養に必要な $3.1\sim 4.0\mu\text{M}$ を下回る年が多く、16年中14年であった(図-2)。一方、海洋深層水の硝酸塩濃度は、 $15.8\mu\text{M}$ であり、

$3.1\sim 4.0\mu\text{M}$ を大きく上回っている。このことから殆どの年の11月では、ホソメコンブ配偶体を室内で培養するにあたっては、表層水を使うよりも海洋深層水を利用した方が、少なくとも硝酸塩濃度の条件は良好になるものと思われる。そして岡ら²⁾はホソメコンブの大きさ5mm程度の孢子体を集塊状にし、海洋深層水を掛け流した陸上のタンク内でこれを培養し生産する実証試験に成功している。今後は両知見を組み合わせ、海洋深層水を利用して配偶体から小型の孢子体の時期にかけてのホソメコンブの陸上養殖技術開発が一層進展することが望まれる。

謝 辞

本研究にご協力を賜った、森 立成・津田藤典の両氏を始めとした北海道中央水産試験場の各位、井関和夫・内田卓志(当時)・寺脇利信の各氏を始めとした瀬戸内海区水産研究所の各位、北海道原子力環境センターの各位、北海道大学の阿部剛史氏に深謝します。

参 考 文 献

- 1) 川井唯史・金田友紀・桑原久実：ウニ侵入防止フェンス内におけるホソメコンブ群落に適する底面波浪平均流速とウニ類除去適期. 水産工学, 39, pp. 111-116, 2003.
- 2) 岡 直宏・平岡雅規・四ツ倉典滋・西島敏隆・川井唯史：海洋深層水によるコンブ陸上タンク養殖—新しい食材としての利用—. 藻類, 51, p. 97, 2003.
- 3) 北海道：第3四半期泊発電所周辺温排水影響調査結果報告書(昭和61年度～平成13年度), 1987-2002.
- 4) M. Tatewaki: Formation of a crustacean sporophyte with unilocular sporangia in *Scytosiphon lomentaria*. *Phycologia*, 6, pp. 62-66, 1966.
- 5) H. Mizuta, H. Narumi, and H. Yamamoto: Effects of nitrate and phosphate on the growth and maturation of Gametophytes of *Laminaria religiosa* Miyabe (Phaeophyceae). *Suisanzoshoku*, 49, pp. 175-180, 2001.
- 6) C. L. Hurd: Water motion, marine macroalgal physiology and production. *J. Phycol.*, 36, pp. 453-472, 2000.
- 7) 西浜雄二：寿都湾の海洋条件の季節変化. 北水試月報, 39, pp. 1-8, 1982.
- 8) 中多章文・八木宏樹・宮園 章・安永倫明・川井唯史・飯泉 仁：忍路湾における沿岸水温と栄養塩の関係. 北水試研告, 59, pp. 31-41, 2001.
- 9) 高橋正征：海洋深層水とは. 海洋と生物, 23, pp. 326-331, 2001.