

サガラメ *Eisenia arborea* Areschoug (Phaeophyceae) 配偶体の生長・成熟に及ぼす 駿河湾深層水の影響

Effect of Suruga Bay deep-sea water on the growth and maturation of gametophytes of *Eisenia arborea* Areschoug (Phaeophyceae)

二村 和規・岡本 一利・高瀬 進

Kazumi NIMURA, Kazutoshi OKAMOTO and Susumu TAKASE

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of Suruga Bay deep-sea water on the growth and maturation of gametophytes of *Eisenia arborea* Areschoug. The gametophytes were cultured under the laboratory conditions, e.g. in surface water (SW), Suruga Bay deep-sea water (DSW), and Provasoli's enriched seawater (PES) without iron. Average growth rate of somatic cells in male and female gametophytes were 139, 93 % in SW, 200, 175 % in 397 m DSW, 245, 247 % in 687 m DSW, and 266, 213 % in PES without iron, respectively. After each culture medium was replaced by one containing iron, the gametophytes were continuously cultured for another 21 days. At the end of culture, the maturity rates of female gametophytes in SW, 397 m DSW, 687 m DSW and PES were 30, 50, 80 and 100 %, respectively. These observations suggest that Suruga Bay deep-sea water is suitable for the growth and maturation of the gametophytes.

Key Words: Deep-sea water, *Eisenia arborea*, gametophyte, growth, maturation

要 旨

駿河湾深層水がサガラメ *Eisenia arborea* Areschoug 配偶体の生長・成熟に及ぼす影響を調べた。雄性および雌性配偶体の8日間の体細胞平均増加率は、表層水区で139, 93%, 397 m 深層水区で200, 175%, 687 m 深層水区で245, 247%, 鉄無添加 Provasoli 栄養塩補強海水(以下 PES) 区で266, 213%であった。その後、それぞれの培地に鉄を添加したものに交換し、さらに21日間培養を行った。試験終了時の雌性配偶体の成熟率は、表層水区、397 m 深層水区、687 m 深層水区、PES 区で、30, 50, 80, 100%であった。以上から、駿河湾深層水はサガラメ配偶体の生長および成熟に適していた。

キーワード: サガラメ, 深層水, 成熟, 生長, 配偶体

1. 諸 言

褐藻コンブ科植物であるサガラメ *Eisenia arborea* Areschoug は、主に静岡県駿河湾西岸か

ら徳島県沿岸にかけて分布している(川嶋, 1993)。駿河湾西岸の榛原地方南部海域には、かつて約8000 ha もの大規模なサガラメ海中林が存在していたが、1990年頃から海中林の分布範囲が減少し、

Table 1. Nitrate and phosphate concentrations in surface water and Suruga Bay deep-sea water from May 2002 to January 2003

Seawater		NO ₃ ⁻ -N (mg/L)	PO ₄ ³⁻ -P (mg/L)
Surface water*	Maximum	0.01	0.006
	Minimum	0.21	0.028
	Average	0.07	0.013
397 m DSW	Maximum	0.24	0.047
	Minimum	0.51	0.074
	Average	0.37	0.061
697 m DSW	Maximum	0.27	0.063
	Minimum	0.58	0.085
	Average	0.47	0.078

Modified from Igarashi (2004).

* Surface water from 24 m depth.

1995年以降はほとんどの海域でサガラメの生育が確認できない状態となっている(長谷川, 1996; 相楽, 2000)。このため天然海域での胞子の供給は期待できず, 増殖用種苗を生産・移植する必要があると考えられる。

サガラメ配偶体の生長・成熟には, 光量や水温が影響を及ぼし, 水温 20 °C で生長・成熟が早いことが報告されている(林田ら, 1999; 林田, 2002)。また, コンブ属植物の配偶体の成熟には鉄が必要であり, 培地中の鉄濃度が低い場合には栄養生長を繰り返すことが報告されている(Motomura and Sakai, 1984)。サガラメと同属であるアラメでは, この特性を利用して生長させた配偶体を細断し, 種糸に着生させることで種苗を生産することが可能である(川嶋・松本, 2003)。

駿河湾深層水は水深 397 m および 687 m から陸上取水しており, 両深層水中の硝酸態窒素およびリン酸態リン濃度は表層水に比べて高く, 水深 397 m から取水した駿河湾深層水は高知県室戸市および富山県滑川市の深層水と同様の栄養塩濃度である(五十嵐, 2004; Table 1)。水深 687 m から取水した深層水は, 両県の深層水と比べて硝酸態窒素およびリン酸態リン濃度が高いことが報告されている。また, 鉄は表層水と同程度の 30 nM 以下と微量である(宋林, 2002)。さらに, ホソメコンブ配偶体では高い硝酸およびリン濃度により成熟が促進され

ることが報告されていることから(Mizuta *et al.*, 2001), 深層水は成熟にも影響を及ぼす可能性がある。このため, 本研究では駿河湾深層水がサガラメ配偶体の生長・成熟に及ぼす影響について調べた。

2. 材料と方法

材料

材料には静岡県御前崎市御前崎で 1999 年 8 月に採集したサガラメ胞子体 *Eisenia arborea* Areschoug から得た経代培養株(成体)を用いた。遊走子の採取のため, この胞子体から子嚢斑部を切り取り, 1 mg L⁻¹ 二酸化ゲルマニウムおよび 0.1 % ポピドンヨード(吉田製薬株式会社, 東京)で調整した滅菌ろ過海水中に 30 分浸けた。その後, 水分をペーパータオルでふき取り, 冷蔵庫で 1 昼夜保存した後, 子嚢斑部を 100 ml のろ過滅菌海水に浸し, 遊走子を放出させた。この遊走子液を 30 ml の鉄無添加 Provasoli 栄養塩補強海水(以下 PES-Fe とする)(川嶋・松本, 2003)を満たした直径 9 cm のプラスチックシャーレに 3 mL ずつ移し, 雌雄配偶体に分化するまで 18 日間培養した後, 実験に供した。なお培養条件は, 光量 20 μE m⁻² s⁻¹, 水温 20 °C, 光周期 12 時間明期, 12 時間暗期とした。

生長試験

深層水が配偶体の生長に及ぼす影響を調べるため, 静岡県焼津市焼津新港地先の水深 24 m, 397 m, 687 m から取水した海水(以下, 表層水, 397 m 深層水, 687 m 深層水)と, PES-Fe を用いた。培養海水への馴致のために表層水, 397 m および 687 m 深層水, PES-Fe で 1 日間前培養した後, 上記の培地により 4 試験区を設定した。その他の培養条件は上記と同様とした。培養に用いたいずれの海水も, グラスファイバーフィルター GA100(アドバンテック東洋株式会社, 東京)でろ過した後, 120 °C で 15 分間滅菌して用いた。なお, 海水中の硝酸態窒素, リン酸態リン濃度は, 表層水で 2.0, 0.2 μM, 397 m 深層水で 15.6, 2.5 μM, 687 m 深

Table 2. Effects of culture media on the growth of male and female gametophytes

Sex	Culture medium	Number of cells ^{*1, 2}		Average propagation rate (%) (B/A)×100
		19 day (A) ^{*3}	27 day (B) ^{*3}	
Male	SW	9.9±3.1 ^a	13.8±4.6 ^e	139
	397 m DSW	9.7±2.9 ^a	19.4±4.2 ^d	200
	687 m DSW	10.2±2.1 ^a	25.0±11.0 ^d	245
	PES-Fe	8.2±1.7 ^a	21.8±6.3 ^d	266
Female	SW	5.7±2.3 ^a	5.3±2.2 ^a	93
	397 m DSW	4.8±1.7 ^{ab}	8.4±2.8 ^c	175
	687 m DSW	3.8±1.6 ^b	9.4±4.4 ^c	247
	PES-Fe	3.9±1.7 ^b	8.3±3.2 ^c	213

^{*1} Data show means±S.D. (n=10).

^{*2} Different characters represent significant differences: among culture media (Fisher's PLSD, $p < 0.05$), before and after culture period (t -test, $p < 0.05$).

^{*3} Days after liberation of zoospore.

層水で 16.5, 2.9 μM であり, PES-Fe は表層水を用いて調整した. 試験期間は遊走子放出後 19 ~ 32 日とし, 19 および 27 日後に雌雄配偶体各 10 個体を倒立顕微鏡下で測定し, この間の体細胞数の増加量から体細胞平均増加率を算出した.

成熟試験

深層水が雌性配偶体の成熟に及ぼす影響を調べるため, 2-2 生長試験後 (遊走子放出 32 日後), 上記 4 区に Fe-EDTA を PES と同濃度に調整した培地に交換した (川嶋・松本, 2003). 添加した鉄は, ミツイシコンブ雌性配偶体において卵形成を強く誘導するキレート鉄を用いた (Motomura and Sakai, 1981). また, 対照として前述の生長試験に続き PES-Fe 区も設定した. 成熟については, 21 日間の培養期間中, 適宜雌性配偶体 20 個体を観察し, 雌性配偶体に占める成熟個体数から成熟率を算出した. なお, 成熟とは雌性配偶体上に卵もしくは発芽孢子体を形成した状態とした.

3. 結果および考察

各試験区での雌雄配偶体の体細胞数および生長率を Table 2 に示す. 雄性配偶体の生長試験開始時 (遊走子放出 19 日後) の細胞数は, 表層水区, 397 m 深層水区, 687 m 深層水区および PES 区で, それぞれ 9.9±3.1, 9.7±2.9, 10.2±2.1, 8.2±1.7 であり, 遊走子放出 27 日後の細胞数は 13.8±4.6,

19.4±4.2, 25.0±11.0, 21.8±6.3 であった. いずれの試験区も 8 日間で細胞数は増加し, 397 m 深層水区, 687 m 深層水区, PES 区では表層水区よりも高い値を示した. 雌性配偶体の試験開始時の細胞数は, 表層水区, 397 m 深層水区, 687 m 深層水区および PES 区で, それぞれ 5.7±2.3, 4.8±1.7, 3.8±1.6, 3.9±1.7 であり, 遊走子放出 27 日後の細胞数は 5.3±2.2, 8.4±2.8, 9.4±4.4, 8.3±3.2 であった. 表層水区では細胞数は増加せず, 他の試験区よりも低い値を示した. 雄性および雌性配偶体の体細胞平均増加率は, 表層水区で 139, 93 %, 397 m 深層水区で 200, 175 %, 687 m 深層水で 245, 247 %, PES-Fe 区で 266, 213 % を示した. なお, いずれの試験区においても成熟した配偶体は観察されなかった. 遊走子放出 28 日後の雌雄配偶体を Fig. 1 に示す. 雄性配偶体では表層水区以外で分枝した個体が観察された. また, いずれの雌雄配偶体においても色素の退色等, 外見上の異常は認められなかった.

深層水中で培養したアラメ・カジメ配偶体は, 表層水よりも良好な生長を示すことが報告されている (田島・山中, 1990; 鈴村, 1998). また, *Laminaria saccharina* 配偶体は, 硝酸およびリン酸態リン濃度の増加に伴い体細胞数が増加することが報告されている (Hsiao and Druehl, 1973). このためサガラメ配偶体においても硝酸およびリン酸濃度が高い深層水区において, 表層水区よりも高い生長率を示したと考えられる. このように駿河湾深層

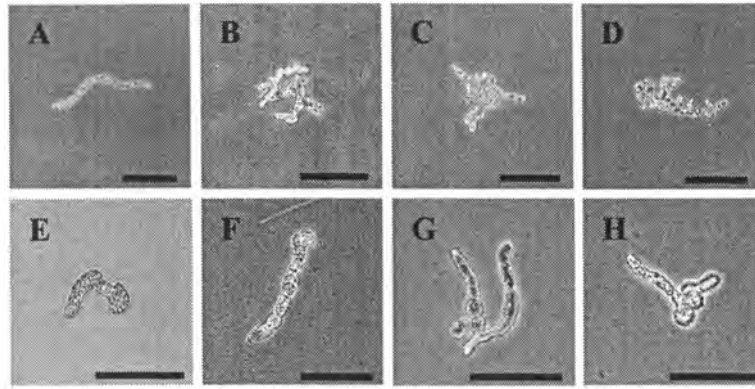


Fig. 1. Male and female gametophytes in different culture media at 28 days after liberation of zoospore. Male gametophytes in SW (A), 397 m DSW (B), 687 m DSW (C) and PES-Fe (D). Female gametophytes in SW (E), 397 m DSW (F), 687 m DSW (G) and PES-Fe (H). Scale bars indicate 100 μm .

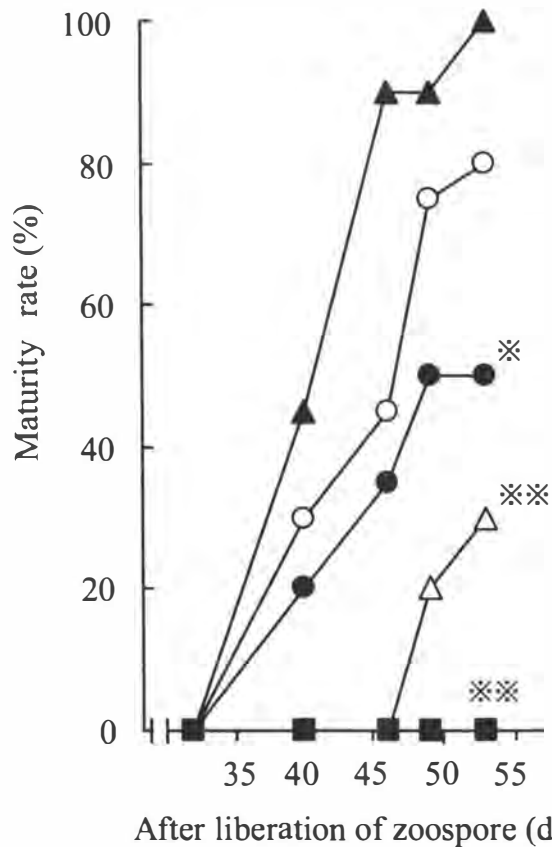


Fig. 2. Maturity rates of female gametophytes in different culture media.

Each symbol indicates SW + Fe (Δ), 397 m DSW + Fe (\bullet), 687 m DSW + Fe (\circ), PES (\blacktriangle) and PES-Fe (\blacksquare). Asterisk indicates significant difference from PES at the end of culture (Chi-test, \ast : $p < 0.05$, $\ast\ast$: $p < 0.01$).

水では PES 区と同等の高い生長率を示したことから、培地の調整をせずに配偶体の生長に適した培地として利用できることが明らかとなった。

深層水が雌性配偶体の成熟に及ぼす影響を Fig. 2 に示す。鉄無添加の PES-Fe 区では成熟試験期間を通して成熟個体は観察されなかった。試験終了時の雌性配偶体の成熟率は、表層水区、397 m 深層水区、687 m 深層水区、PES 区で、30、50、80、100%であった。このように試験終了時には、687 m 深層水区および PES 区の成熟率は表層水区よりも有意に高く、また両区に有意な差は認められなかった。このように鉄を添加することで、配偶体の成熟が促進された。また鉄を添加した場合、培地中の硝酸およびリン濃度が高くなるに伴い成熟率が増加し、鉄を添加した深層水は表層水に比べてより効率的に成熟を促進することが明らかとなった。特に 687 m 深層水区では鉄を加えるのみで PES と同等の成熟促進が可能であり、深層水はサガラメ配偶体の成熟用培地としても利用できると考えられた。以上から、駿河湾深層水はサガラメ配偶体の生長および成熟に適しており、増殖用種苗を培養する際の培地として利用できると考えられた。

文 献

- 長谷川雅俊 (1996) サガラメ異変。伊豆分場だより、264, 2-8.
- 林田文郎・平光一洋・村上宗孝 (1999) 海中林構成種サガラメの配偶体と芽胞体の成長に及ぼす水温の影響。東海大学海洋学部紀要, 47, 125-132.
- 林田文郎 (2002) 海中林構成種サガラメの配偶体と芽胞体の生長に及ぼす光量の影響。東海大学海洋学部紀

- 要, 53, 125-134.
- Hsiao, S. I. C. and L. D. Druehl (1973) Environmental control of gametogenesis in *Laminaria saccharina*. II. Correlation of nitrate and phosphate concentrations with gametogenesis and selected metabolites. *Can. J. Bot.*, 51, 829-839.
- 五十嵐保正 (2004) 陸上取水した駿河湾深層水中の主要成分の変動. 平成 14 年度駿河湾深層水利用可能性調査報告書, 1-2.
- 川嶋之雄・松本正喜 (2003) アラメ・カジメ類の造成技術. 藻場の海藻と造成技術 (能登谷正浩編), 成山堂書店, 東京, pp. 217-230.
- 川嶋昭二 (1993) カジメ. 日本産コンブ類図鑑 (川嶋昭二編), 北日本海洋センター, 札幌, pp. 124-127.
- Mizuta, H., H. Narumi and H. Yamamoto (2001): Effects of nitrate and phosphate on the growth and maturation of gametophytes of *Laminaria religiosa* Miyabe (Phaeophyceae). *Suisanzoshoku*, 49, 175-180.
- Motomura, T. and Y. Sakai (1984) Regulation of gametogenesis of *Laminaria* and *Desmarestia* (Phaeophyta) by iron and boron. *Jpn. J. Phycol.*, 32, 209-215.
- Motomura, T. and Y. Sakai (1981) Effect of chelated iron in culture media on oogenesis in *Laminaria angustata*. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 47, 1535-1540.
- 相楽充紀 (2000) 磯焼け海域における海中林復元にむけて - 配偶体を利用した藻場造成方法の検討. 伊豆分場だより, 282, 2-7.
- 宋林由樹 (2002) 駿河湾と北太平洋における微量金属の動態. 沿岸海洋研究, 40, 21-27.
- 鈴木素弘 (1998) 大型藻類への深層水利用実験. 平成 9 年度駿河湾深層水利用可能性調査報告書, 29-33.
- 田島健司・山中弘雄 (1990) 海洋深層水を利用した大型海藻類の培養技術に関する研究. 高知県海洋深層水研究所報, 2, 7-11.
- (2005. 6. 27 受付, 2005. 10. 21 受理)