

2 港湾 (ペナン, フリーマントル) で採集した *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve の増殖におよぼす栄養塩類の影響

大貝政治・鶴田新生・武田靖昭

Effect of the Nutrients on the Growth of *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve
collected from Penang, Malaysia and Fremantle, Australia

Masaharu Ohgai, Arai Tsuruta, and Yasuaki Takeda

Laboratory culture was made to examine influence of the nutrients on the growth of *Skeletonema costatum* (Grev.) Cleve, which was collected from two different ports, Penang, Malaysia and Fremantle, Australia. The culture in the standard artificial medium (ASP₁₂) and its variations by omitting each one of nutrients showed that either the Penang and Fremantle type grew poorly in the absence of inorganic nitrogen, silicate, borate and vitamin B₁₂ each. But, their growth trend considerably varied from each other with the concentrations of ammonium nitrogen or silicate. These two types of *Skeletonema costatum* were considered to be the ecotypes adapted to the difference of water in their environment.

1 緒 言

本研究は前報¹⁾に引き続き内湾の環境傾度と生物適応に関する研究の一環として行ったものである。前報では異なる海域で採集した本邦産 *Skeletonema costatum* について、その増殖におよぼす栄養塩類の影響を検討し、分布水域の違いによって栄養塩類の濃度に対する増殖反応に差がみられることを明らかにした。今回は外国の2港湾で採集した *S. costatum* について同様の検討を試みたので、その結果を報告する。

2 材料および方法

実験に用いた *S. costatum* は水産大学校練習船耕洋丸の第38次航海において、1985年11月にマレーシアのペナン港、12月にオーストラリアのフリーマントル港でそれぞれネット採集したものである。採集したプランクトンについては、耕洋丸の研究室でピペット洗浄法によって *S. costatum* を分離し、それを PESSi²⁾ で培養した。帰国後、水産大学校の研究室でさらに培養を続けるとともに無菌の種株を作成して実験に供した。

栄養塩類の影響に関する培養実験の方法や条件などは前報¹⁾と同じであり、対照区のための基本培養液として

は人工海水 ASP₁₂³⁾を用い、それと比較する実験区には ASP₁₂ から主要要素のいずれか一つを除いた培養液を用いた。また、主要要素についてはそれらの濃度を変えた培養液を作成し、増殖におよぼす濃度の影響も検討した。なお、各実験区の検体は3本とし、同じ実験を2, 3回繰り返して行った。実験はすべて無菌条件で実施し、細菌検査は STPss 培地⁴⁾を用いて行った。実験終了後、それぞれの検体の細胞数を顕微鏡下で計数し、各実験区の細胞数を対照区のそれと比較することによって栄養塩類の増殖におよぼす影響を検討した。

3 結果および考察

3.1 栄養塩類と増殖

ペナン港およびフリーマントル港種株の *S. costatum* の増殖と栄養塩類の関係を Fig. 1 に示した。ペナン港種株においては ASP₁₂ から NaNO₃, Na₂SiO₃·9H₂O, または P II metals のいずれかを除いた実験区では対照区の ASP₁₂ に比較して明らかに増殖が劣り、ビタミン B₁₂ (以下 B₁₂ と略す)

を除いた実験区でも増殖がやや悪かった。フリーマントル港種株もペナン港種株とほとんど同じような増殖傾向がみられ、上述した要素を除いた場合の増殖は対照区に比べて劣った。次に P II metals については、それに含まれている個々の要素の影響を調べ、その結果を Fig. 2 に示した。それによると、ペナン港種株は P II metals から H₃BO₃ を欠除させると増殖が低下したが、その他の要素についてはほとんど影響がみられなかった。またフリーマントル港種株では H₃BO₃ のほかに FeCl₃ を除いたものでも増殖がやや低下したが、H₃BO₃ の場合に比べるとその影響は小さかった。鶴田ら¹⁾は本邦の3海域で採取した *S. costatum* について増殖と栄養塩類の関係を、Eppley and Renger⁶⁾, Paasche^{7,8)}, Droop⁹⁾ は浮遊珪藻数種について増殖と窒素、珪酸および B₁₂ の関係を、また、大貝⁵⁾ は付着珪藻 *Licmophora* spp., *Synedra gracilis* などの増殖と栄養塩類の関係をそれぞれ検討している。本実験の結果はそれら既往の研究結果と一致しており、珪藻類では浮遊性および付着性のいずれにおいても増殖の栄養源として同じような要素を必要とすることが認められた。

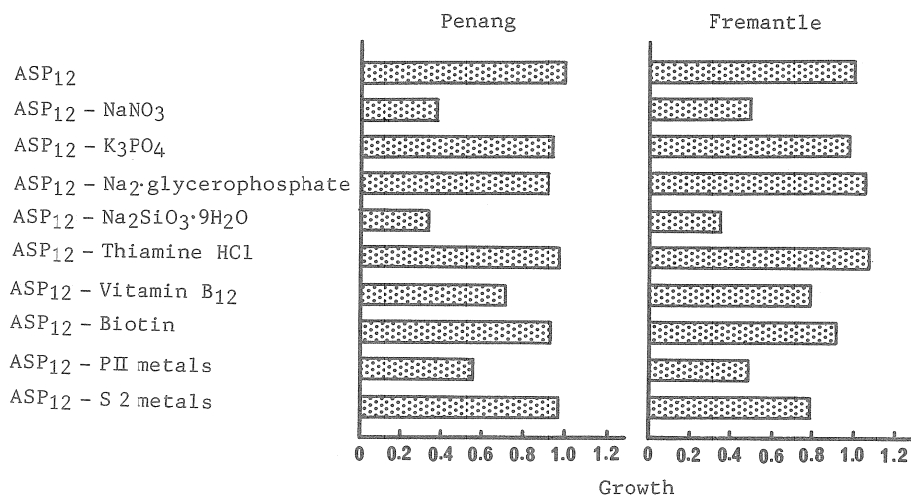


Fig. 1. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas, in ASP₁₂ and various media prepared by omitting each nutrient from ASP₁₂, based on the 8-day cultivation at 20°C. Each nutrient omitted is represented by minus signs. The growth was shown by the relative value to that in ASP₁₂.

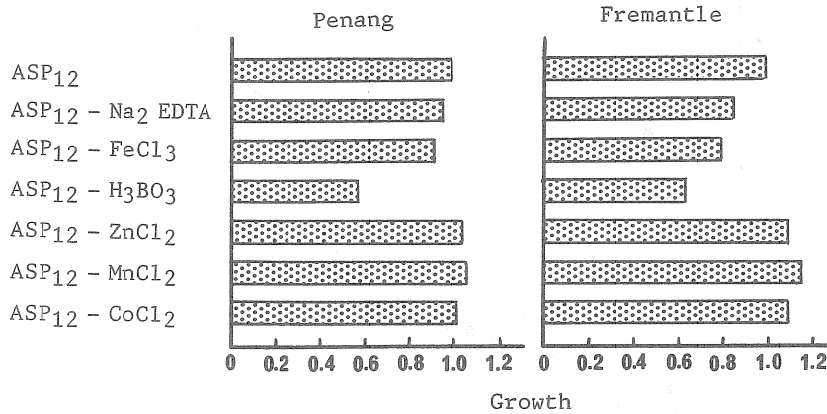


Fig. 2. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas, in ASP₁₂ and various media prepared by omitting each metal from P II metals of ASP₁₂, based on the 8-day cultivation at 20°C. The growth was shown by the relative value to that in ASP₁₂.

3.2 栄養塩類の濃度と増殖

前報¹⁾にしたがって、本実験でも増殖に最も密接な関係があると考えられる無機態窒素、珪酸およびB₁₂について、その濃度と増殖との関係を検討した。各栄養塩類の濃度はいずれも数回の予備実験を経て設定したものである。

1. 無機態窒素：無機態窒素の窒素源として硝酸態窒素(以下NO₃-Nと略す)とアンモニア態窒素(以下NH₄-Nと略す)を用いた。NO₃-NはNaNO₃、NH₄-NはNH₄Clを使用してそれぞれ0~1,000 μg-at/lに10区の濃度区を設けて行った。

ペナン港およびフリーマントル港の*S. costatum*の増殖とNO₃-Nの濃度との関係をFig. 3に示した。両種株ともNO₃-Nの濃度が高くなるにつれて増殖量が次第に増加し、1,000 μg-at/lまで増加し続けた。しかし、両種株の増殖傾向をみると、10 μg-at/l以上の濃度で、ペナン港種株の方がフリーマントル港種株に比較して活発であった。両種株を採取した海域は、その地理的条件からいずれも内湾に分類される海域である。鶴田ら¹⁾は内湾の富栄養化された海域で成育する*S. costatum*はNO₃-Nの濃度が高くなれば増殖も活発になると報告している。両種株ともそのような増殖傾向が認められたので、ペナン港およびフリーマントル港のいずれも富栄養化が進んだ海域であろうと推察される。

さらに、ペナン港種株がフリーマントル港種株に比較して高濃度区における増殖が活発になっているのは、両港の水質の違いによるものと考えられ、ペナン港の方がフリーマントル港より富栄養化された海域ではないかと思われる。

2 港湾の*S. costatum*の増殖とNH₄-Nの濃度の関係をFig. 4に示した。両種株の増殖傾向は濃度が300 μg-at/lまではほぼ類似したが、それを超える濃度では大きな違いが認められた。すなわち、ペナン港種株は濃度が1,000 μg-at/lまで増殖が活発に継続されたが、フリーマントル港種株は300 μg-at/lを超えると増殖が急激に低下した。*S. costatum*の増殖におよぼすNH₄-Nの影響については、これまでに松江¹⁰⁾、岩崎¹¹⁾、鶴田ら¹⁾によって検討されており、NH₄-Nの濃度が300 μg-at/lまでは増殖の窒素源としてよく利用されるが、それを超えると増殖の阻害物質になると報告されている。しかし、内海の富栄養化された海域に成育する*S. costatum*は濃度が300 μg-at/lを超えてもなお増殖を継続することも認められている¹²⁾。本実験において300 μg-at/lを超える濃度で二つのタイプの増殖反応が見られたのは、NO₃-Nの濃度との関係でも推察したように、その大きな原因は両港の水質環境の差異に起因すると考えられる。

2. 珪酸：珪酸はNa₂SiO₃・9H₂Oを用い、Siの濃度として0~100 μg-at/lに10濃度区を設けて行った。2 港湾の*S.*

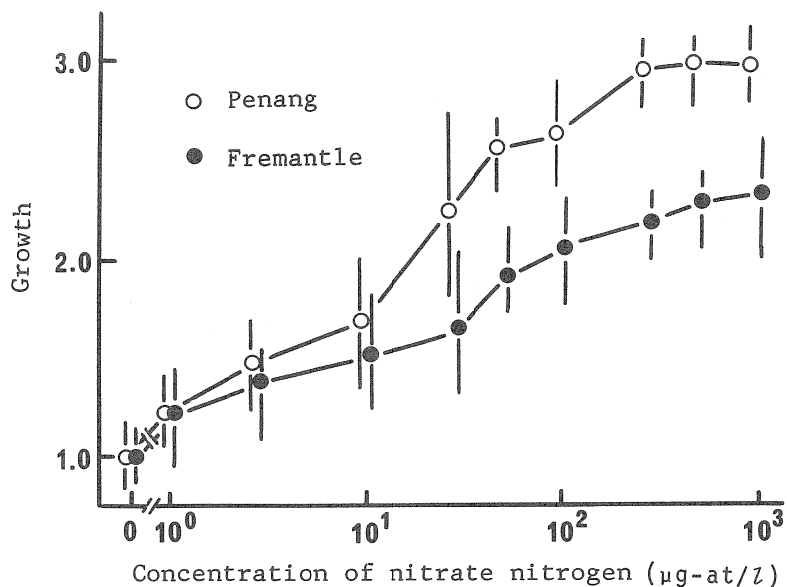


Fig. 3. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas in media containing various concentrations of nitrate nitrogen, based on the 8-day cultivation at 20°C. The growth is shown by the relative value to that in media containing 0 µg-at/l of nitrate nitrogen. Each plot is given by the mean value of cell counts for 8 samples and each vertical bar represents the range of the cell counts.

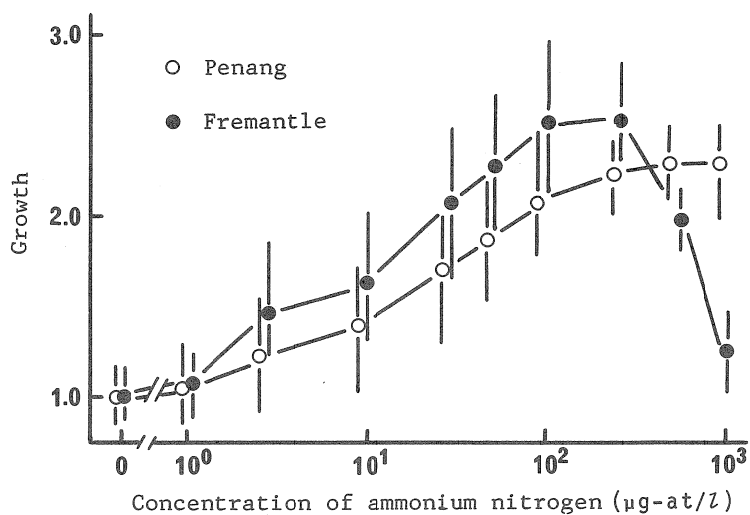


Fig. 4. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas in media containing various concentrations of ammonium nitrogen, based on the 8-day cultivation at 20°C. The growth is shown by the relative value to that in media containing 0 µg-at/l of ammonium nitrogen. Each plot is given by the mean value of cell counts for 8 samples and each vertical bar represents the range of the cell counts.

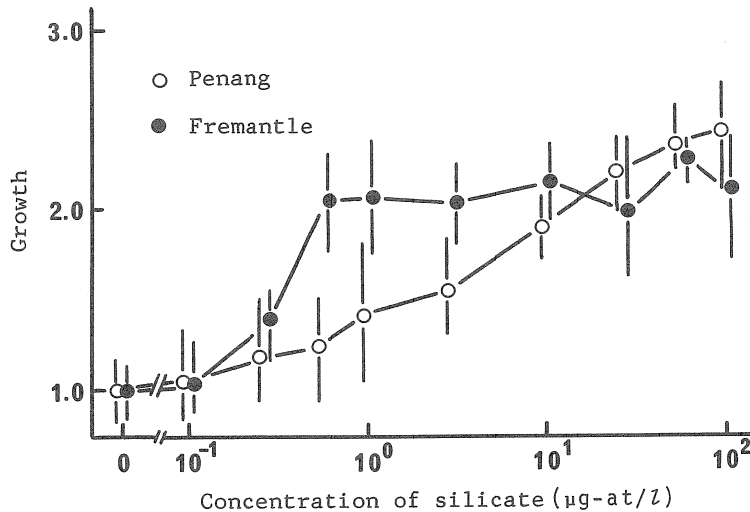


Fig. 5. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas in media containing various concentrations of silicate, based on the 8-day cultivation at 20°C. The growth is shown by the relative value to that in media containing 0 µg-at/l of silicate. Each plot is given by the mean value of cell counts for 8 samples and each vertical bar represents a range the cell counts.

costatum の増殖と珪酸の濃度との関係をFig. 5に示した。ペナン港種株は濃度が高くなるにつれて増殖が活発になり100 µg-at/lまで増殖量が徐々に増加した。一方、フリーマントル港種株は濃度が0.3 µg-at/lから急激に増殖が活発になり、0.5 µg-at/lでほぼ最大の増殖量を示し、それを超える濃度ではほぼ一定になった。このように珪酸の濃度についても、種株によって異なる増殖反応がみられた。

海水中に含まれる珪酸は一般に沿岸・内湾で高く、外海で低くなっている。両港はどちらも内湾に位置するが、その塩分量は航海中の測定記録からペナン港では29.1‰^{*1}、フリーマントル港では35.8‰^{*2}であった。通常の世界では塩分量と珪酸濃度との間には逆の関係が成り立つことが知られているので、ペナン港の珪酸濃度はフリーマントル港より高いと考えられる。したがって、珪酸濃度が高いと考えられるペナン港の種株は、高い珪酸濃度に順応しているとみられ高濃度になるにつれて増殖が活発になるのである

う。それに反して、珪酸濃度がペナン港より低いと思われるフリーマントル港の種株は、低い珪酸濃度でも増殖が活発に行われると考えられる。このような傾向は*S. costatum*のもつ一般的な生理特性の一つであると考えられる。

3. B₁₂: 実験はB₁₂の濃度として0~0.1 µg/lに9区の濃度区を設けて行った。2港湾の*S. costatum*の増殖とB₁₂の濃度との関係をFig. 6に示した。ペナン港およびフリーマントル港種株のB₁₂の濃度に対する増殖反応は、両種株ともそれぞれ10⁻⁴~10⁻³ µg/lでは濃度が高くなると増殖が活発になるが、10⁻³ µg/lを超えると増殖量がほぼ一定になった。しかし、その増殖傾向をみると、B₁₂の濃度が3×10⁻⁴ µg/l以上になるとフリーマントル港種株の増殖がより活発になって増殖量も多くなり、NO₃-Nでみられた両種株の増殖と逆の関係が認められた。この原因は明らかではないが、これまでの結果からみて両種株の成育環境水に含まれるB₁₂の濃度に密接な関係があるように思われる。

* 1 1985年11月21日測定

* 2 1985年12月9日測定

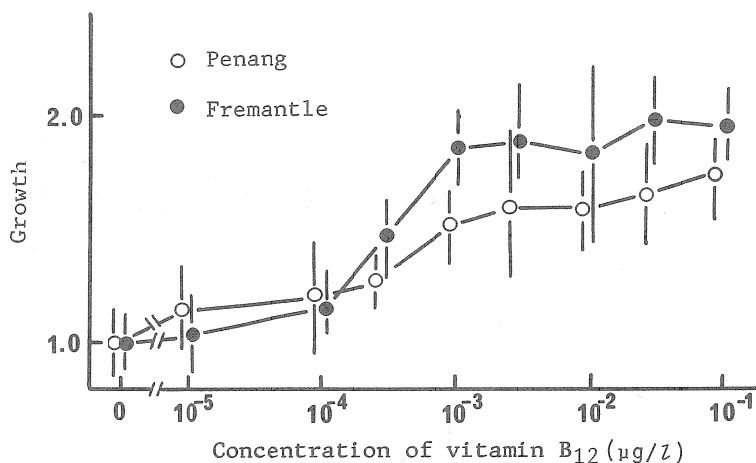


Fig. 6. Growth of *Skeletonema costatum* collected from the two different port areas in media containing various concentrations of vitamin B₁₂, based on the 8-day cultivation at 20°C. The growth is shown by the relative value to that in media containing 0 µg-at/l of vitamin B₁₂. Each plot is given by the mean value of cell counts for 8 samples and each vertical bar represents a range the cell counts.

S. costatum の増殖と B₁₂ の濃度との関係は、前報¹⁾と同じ 10⁻³ µg/l で増殖量がほぼ最大に達した。*S. costatum* の増殖量が最大になる B₁₂ の最小必要濃度は、これまでに Droop⁹⁾ が 10⁻⁴ µg/l、西島ら¹³⁾ が 1.2 × 10⁻² µg/l と報告しており、成育海域の違いによって異なっていることが認められる。このように B₁₂ の最小必要濃度に差異がみられることも、各種株の成育環境水の水質、とくに B₁₂ の溶存濃度と関係が深いと推察される。

以上のように、マレーシアのペナン港およびオーストラリアのフリーマントル港で採取した *S. costatum* の増殖と栄養塩類の関係は、両種株とも無機態窒素、珪酸、B₁₂ および硼酸が欠除すると増殖が低下し、ほぼ同様の結果が得られた。しかし、両種株の主要栄養塩の濃度に対する影響はそれぞれ異なっており、とくに NH₄-N と珪酸の濃度との関係において、両種株の増殖反応に大きな差異がみられた。鶴田ら¹⁾ は *S. costatum* が成育環境水の水質の違いによってそれぞれの海域に順応した生態型 (ecotype) を有しているとして報告しているが、本実験結果はそれを裏付けるものであると考えられる。

文 献

- 1) 鶴田新生・大貝政治・上野俊士郎・山田真知子：日水誌, **53**, 145-149 (1987).
- 2) 大貝政治・塚原 博・松井敏夫・中島和広：日水誌, **50**, 1157-1163 (1983).
- 3) L. Provasoli : in "Proceedings of the 4th International Seaweed Symposium" Pergamon Press, Oxford, 1963, pp. 9-17.
- 4) L. Provasoli, J. J. A. McLaughlin, and M. R. Droop : *Arch. Mikrobiol.*, **25**, 392-222 (1957).
- 5) 大貝政治：水産大研報, **34**, 170-222 (1986).
- 6) R. W. Eppley and E. R. Renger: *J. Phycol.*, **10**, 15-23, (1974).
- 7) E. Paasche : *Mar. Biol.*, **19**, 117-126 (1973).
- 8) E. Paasche : *Mar. Biol.*, **19**, 262-269 (1973).
- 9) M. R. Droop : *Meeresunters.*, **20**, 629-636 (1970).
- 10) 松江吉行：水産学集成, 東大出版会, 東京, 1957, pp. 249.
- 11) 岩崎英雄：日本プランクトン学会報, **19**, 104 -114 (1973).
- 12) 山田真知子：京都大学学位請求論文, 1 - 94 (1987).
- 13) 西島敏隆・畑 幸彦：日水誌, **52**, 173-179 (1986).