

深層水に栄養塩類及びビタミン類を添加した場合の カジメ配偶体の生長と成熟

岡村 雄 吾

【目的】

高知県海洋深層水研究所で取水される深層水は、カジメ配偶体の生長には促進効果があるが、成熟に必要な因子が不足していることが窺われた¹⁾。それを改善するために深層水にEDTA、ProvasoliのP IIメタル、Fe-EDTAを添加したが、改善効果は認められていない^{1, 2)}。

本実験では、深層水にビタミン類を添加することによりカジメ配偶体の成熟に改善が図られるのではないかとの考えから、藻類培養に用いられる代表的な培地であるPES培地のビタミン組成を深層水に添加し、その添加効果を明らかにしようとした。

【材料及び方法】

実験に使用したカジメは、海洋深層水研究所地先海面から潜水により採集したものである。採集後、ただちに研究所に持ち帰り、子嚢斑を形成した成熟部分を数cm角に切り取り、深層水とスポンジで入念に表面を洗浄し、3%次亜塩素酸ナトリウム溶液に10分間浸して表面殺菌を施した。殺菌の終了したカジメ葉片を0.22 μ mフィルターで濾過滅菌した深層水で洗浄し、2時間の陰干しを経て、ろ過滅菌深層水を入れた500mlビーカーに浸し遊走子を放出させた。

遊走子を含む海水をプラスチックシャーレ(ϕ 60 \times 15mm)に注ぎ、顕微鏡下で適当な着生数になりしだい遊走子液を捨て、培養液で5回シャーレを洗い流し、余分な遊走子液を除去し、培養を開始した。

培養にはグロースチェンバーを用い、培養温度20 $^{\circ}$ C、照度4,000ルクス、明期12時間・暗期12時間の条件下で培養した。培養液の海水にはろ過滅菌深層水を用い、施肥区としてPESI培地区(PESI

区)、PESI培地ビタミン添加区(PESI+V区)、ビタミン添加区(V区)の3区及び施肥を行わないもの(無施肥区)、合計4区を設けた。なお、添加したビタミンの組成はPES培地のビタミン組成に準じた。これらの培養液をシャーレにそれぞれ10ml加え、2日毎に全量を交換した。培養期間中、通気は行わなかった。

遊走子及び配偶体の観察には倒立顕微鏡を用い、2日毎に検鏡した。雌雄の識別ができない時期は無作為に抽出した30個体を、雌雄の識別が可能になった後は、無作為に雌雄各20個体の配偶体の細胞数及び細胞直径を計数、測定した。雌性配偶体から卵が放出された時点をもって成熟とし、観察を終了した。

【結果】

雌性配偶体の成熟

雌性配偶体の成熟は、PESI区及びPESI+V区では培養開始12日目に認められた。一方ビタミンのみ添加区のV区及び無施肥区では、それより2日後の培養開始14日目に成熟を確認した。

配偶体の細胞数

シャーレに着生した遊走子は培養開始2日目には発芽し、配偶体となっていた。配偶体は培養開始4日目の観察時には一部が2細胞となり、4~8日目以降指数的に増加した(図1, 2)。培養開始6日目には配偶体細胞直径の違いから雌雄判別は可能となった。

雌性配偶体の細胞数は、培養開始8日目までは単細胞と2細胞であったが、それ以降いずれの実験区も細胞数が増加し、培養開始12日目には平均2.4~3.2細胞であった(表1, 図1)。培養開始12日目における実験区間の雌性配偶体細胞数には、

有意差がなかった (Tukeyの多重比較、表1)。

雄性配偶体の細胞数は、雌性配偶体のそれとは異なり、培養開始4日目以降指数的に増加した (図2)。培養開始12日目の雄性配偶体の平均細胞数は、PESI区が最も多く25.4細胞、次にPESI+V区の23.1細胞、無施肥区の18.4細胞となり、V区が最小で17.3細胞であった。これらの値は、雌性配偶体におけるその5.4~10.6倍であった。培養

開始12日目の雄性配偶体の平均細胞数について PESI区はV区及び無施肥区との間で、また、PESI+V区はV区との間で有意差が認められた (Tukeyの多重比較、表1)。すなわち、雄性配偶体の分裂にはビタミン類の添加のみでは十分でなく、PESI培地に含まれる他の成分が必要であるとの結果が得られた。ビタミン類の添加は必要でなかった。

表1 培養開始12日目における配偶体細胞数

性別	細胞数 (細胞/個体)			
	PESI区 mean±S.E.	PESI+V区 mean±S.E.	V区 mean±S.E.	無施肥区 mean±S.E.
雌性配偶体	2.35±0.196	3.15±0.519	2.75±0.228	2.80±0.225
雄性配偶体	25.4±1.696* ¹	23.1±1.488* ²	17.3±1.179	18.4±0.961

* 1 : V区及び無施肥区との間に有意差あり (p<0.01)

* 2 : V区との間に有意差あり (p<0.01)

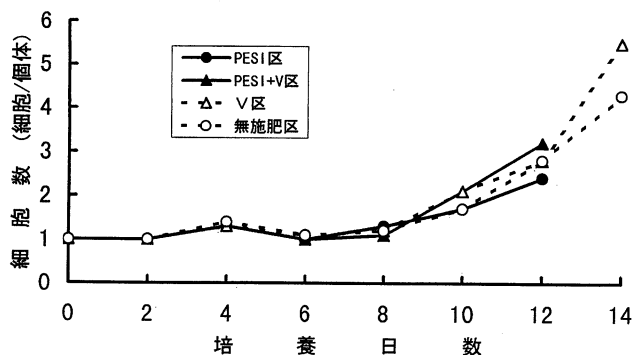


図1 雌性配偶体の細胞数の推移

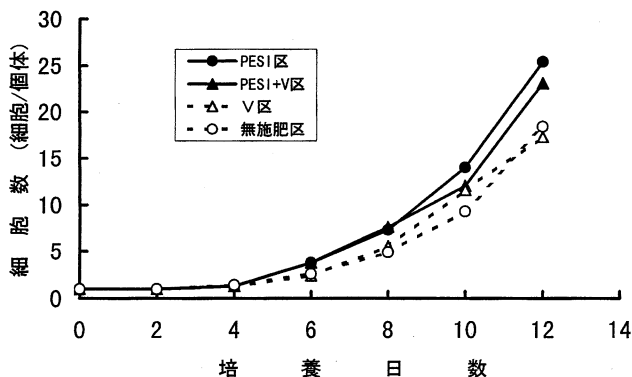


図2 雄性配偶体の細胞数の推移

配偶体の直径

PESI区の雌性配偶体の細胞直径は、雌雄の判別が可能になった培養開始6日目では12.2μmであった (図3)。その後、培養日数の経過とともに細胞直径は大きくなり、成熟時には17.0μmであった。PESI+V区における細胞直径の推移はPESI区とほぼ同じであった (図3)。一方、ビタミンのみ添加区のV区及び無施肥区においては、培養開始6日目にすでに前2者と比較して細胞直径が明らかに小さく、培養日数の経過とともにその差は拡大した (図3)。培養開始12日目におけ

る雌性配偶体細胞直径を比較すると、PESI区が最も大きく (17.0μm)、順にPESI+V区 (16.9μm)、無施肥区 (15.1μm)、V区 (13.5μm) と小さくなり、PESI区とPESI+V区はV区及び無施肥区との間で、また、V区は無施肥区との間で有意差が認められたが、PESI区とPESI+V区間には有意差が認められなかった (Tukeyの多重比較、表2)。すなわち、雌性配偶体の直径においては無施肥と比較してビタミンの添加は阻害的に作用すること、さらにPESI培地に含まれる成分が有効であるとの結果が得られた。

雄性配偶体の細胞直径は、培養開始6日目には7.5~8.6 μm であったものが、8日目には7.9~9.4 μm まで大きくなった。その後は雌性配偶体とは逆に培養日数の経過とともに小さくなり、培養開始12日目には6.5~7.0 μm になった(図4)。雌性配偶体とは異なり、培

養開始12日目の実験区間の細胞直径には差はなかった(Tukeyの多重比較、表2)。

なお、雌性配偶体の細胞直径は、実験期間をとおして雄性配偶体のそれよりも大きかった(図3、4)。

表2 培養開始12日目における配偶体細胞直径

性別	細胞直径 (μm)			
	PESI区 mean \pm S.E.	PESI+V区 mean \pm S.E.	V区 mean \pm S.E.	無施肥区 mean \pm S.E.
雌性配偶体	17.0 \pm 0.355* ¹	16.9 \pm 0.345* ¹	13.5 \pm 0.431* ²	15.1 \pm 0.543
雄性配偶体	6.63 \pm 0.160	7.00 \pm 0.140	6.50 \pm 0.172	7.00 \pm 0.190

* 1 : V区 (p<0.01) 及び無施肥区 (p<0.05) との間に有意差あり

* 2 : 無施肥区との間に有意差あり (p<0.05)

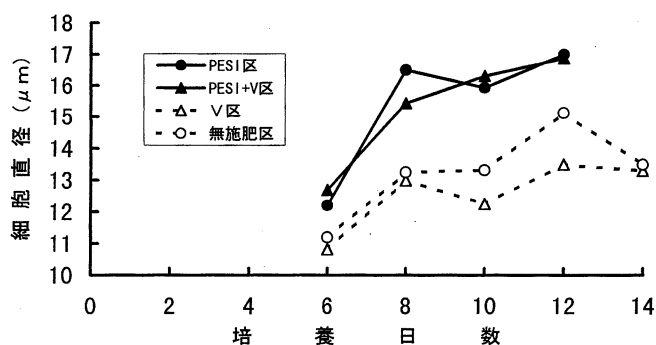


図3 雌性配偶体の細胞直径の推移

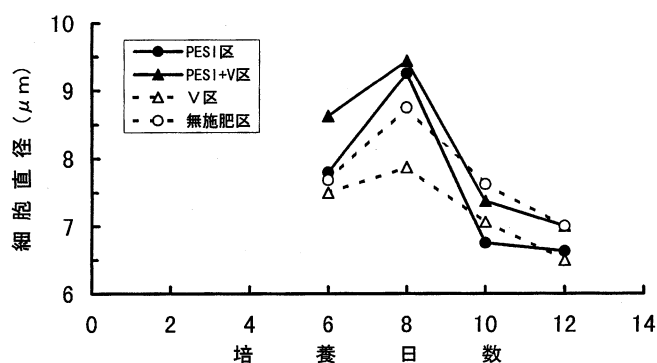


図4 雄性配偶体の細胞直径の推移

【考察】

当研究所で取水されている深層水は、カジメ配偶体の成熟に必要な因子が不足しているといわれ^{1, 2)}、それを補うために、本実験では藻類培養に用いられる代表的な培地であるPES培地のビタミン組成を深層水に添加し、成熟の改善を試みた。その結果、今回の実験では深層水へのビタミン類の添加の有無及びPESI培地の添加の有無に関わらず、いずれの実験区でも培養開始12日目から14日目に雌性配偶体の成熟が確認された。よって、本実験からは深層水を培養液に用いた場合、カジメの雌性配偶体の成熟に遅延は起きず、ビタミン類やPESI培地の添加の必要性は認められなかった。

田島ら¹⁾が、培養液に深層水単独及び深層水にEDTA、Fe、I₂を添加してカジメ配偶体の成熟を調べた試験区では、雌性配偶体の成熟は、それぞれ28日目と30日目であった。前者に該当する本試験の無施肥区における雌性配偶体の成熟は14日目であった。本種に近縁のアラメの雌性配偶体の成熟は、至適水温より低温になるほど成熟が遅滞すること、光周期のうち明期が短くなると生長が遅れることが明らかにされている³⁾。本実験と田島ら¹⁾の培養条件の間には、培養水温及び明期の長さに関して僅かな違いがあり、このことにより異なる結果を得た可能性がある。また、深層水の取水時期により珪藻類の細胞収量が変動することが

報告されており⁴⁾、実験時期の相違が実験結果の違いに現れた可能性も考えられる。

カジメ配偶体の細胞数は、雌と比べて雄の方が速やかに増加した。これは田島ら^{1, 2)}のカジメ配偶体についての報告のみならず、アラメ³⁾、クロメ⁵⁾など他のコンブ科海藻類の結果ともよく一致した。また、カジメ配偶体の細胞直径は、雌が雄より大きいことも他のコンブ科海藻類^{6, 7)}と同様であった。

カジメの雌性配偶体の生長を細胞数の増加の観点からみると、栄養塩類やビタミン類の添加にかかわらず、成熟までの細胞数の増加には差がなかった。このことは、深層水には雌性配偶体の細胞数の増加に必要な栄養塩類やビタミン類が含まれていることを意味し、田島ら¹⁾のいう深層水の生長促進効果と一致する。細胞直径を基準に雌性配偶体の生長をみると、深層水より高濃度の栄養塩類を含む実験区が有意に細胞直径が大きく、栄養塩類が豊富なほど雌性配偶体の細胞直径は大きくなることが明らかになった。しかし、成熟時点における雌性配偶体の細胞直径の大小が、その後の卵や孢子体の発芽や生き残り等に及ぼす影響は不明であり、細胞の大小がどれほどの意義を有するか今後に残された課題である。

雄性配偶体における実験区間の細胞数は、雌とは異なりビタミン添加よりもPESI培地に含まれる成分により、より有意に増加し深層水に含まれる栄養塩類だけでは不十分であると考えられる結果であった。一方、細胞直径には有意差を生じなかった。田島ら¹⁾は深層水と表層水の混合比を変えて雄性配偶体を培養した場合、深層水の混合比が大きいほど細胞数及び大きさが増すことを報告している。雄性配偶体の細胞数の増加には、表層水よりも深層水が、さらにはPESI培地の添加が有効であると考えられる。細胞の大きさについては、表層水よりも深層水が生長を促進するが、ビタミン類や栄養塩類をさらに追加しても効果はなく、深層水のみで十分であると考えられる。

【引用文献】

- 1) 田島健司・山中弘雄 (1996a) 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. 深水研所報, 1, 6-11.
- 2) 田島健司・山中弘雄 (1996b) 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. 深水研所報, 2, 7-11.
- 3) 谷口和也・秋山和夫 (1982) アラメ配偶体の生長及び成熟に対する水温と光条件. 東北水研報, 45, 55-59.
- 4) 深見公雄・西島敏隆 (1994) 海洋深層水を用いた餌料性珪藻の効率的培養および深層水由来細菌の添加効果. 月刊海洋, 26(3), 139-145.
- 5) 成原淳一 (1987) クロメ配偶体の生長・成熟に及ぼす温度ならびに照度の影響. 水産増殖, 35(1), 1-6.
- 6) 右田清治 (1985) アントクメの生活史と養殖試験. 長大水研報, 58, 105-111.
- 7) 館脇正和 (1979) (Ⅲ) 褐藻ワカメ, コンブ. 西澤一俊・千原光雄(編), 藻類研究法, 共立出版株式会社, 東京, pp.754