

珪藻Cylindrotheca closterium (Ehrenberg) Reimann et Lewinの増殖に及ぼす環境諸要因の影響

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	大貝, 政治 岩野, 英樹 星島, 正樹
巻/号	52巻9号
掲載ページ	p. 1635-1640
発行年月	1986年9月

珪藻 *Cylindrotheca closterium* (EHRENBERG) REIMANN *et* LEWIN の 増殖に及ぼす環境諸要因の影響

大貝 政治, 岩野 英樹, 星島 正樹

(1986年2月24日受理)

The Effect of the Environmental Factors on the Growth of Diatom *Cylindrotheca closterium* (EHRENBERG) REIMANN *et* LEWIN

Masaharu Ohgai,*¹ Hideki Iwano,*² and Masaki Hoshijima*³

The study was undertaken in order to elucidate a variety of factors affecting the propagation of *Cylindrotheca closterium* found on the nori nets. The following results were obtained:

1) The species showed a tendency to increase with the fall of temperature in the monthly changes of cell numbers. 2) The range of the optimal temperature for good growth was 10–25°C. 3) The optimal pH was 7.3 to 9.0 at 10°C and 7.0 to 9.0 at 15°C and 20°C. 4) The optimal light intensity was above 2,000 lx at 10°C, 3,000 lx at 15°C and 2,000 lx at 20°C. 5) The species grew optimally under the value of chlorinity, 14.6 to 22.0‰ at 10°C, 13.5 to 22.0‰ at 15°C and 11.0 to 22.0‰ at 20°C. 6) The effect of each nutrient on the propagation, inorganic nitrogen, silicate and borate were necessary for the propagation, and especially the first and third compounds were essential. 7) The amino acids released from the nori fronds were utilized for the propagation as the nitrogen source for lack of inorganic nitrogen. 8) The general consideration could be made on the propagation factors in the nori cultivation ground. The species grew actively by mainly utilizing inorganic nitrogen at the beginning of cultivation and grew continuously by utilizing the amino acids released from the nori fronds after the middle period.

Cylindrotheca closterium は羽状目に属する珪藻で、浮遊性のプランクトンとしても出現するが、多くは漁網、のり網、岩及び海藻などに着生して生育する。特にのり養殖期になると、本種はのり網に大量に着生して、のりの幼芽の生育や単胞子の着生を阻害する害藻でもある。

本研究はこのようにのり養殖に害を与える *C. closterium* について、その防除の基礎資料となる増殖要因を明らかにする目的で行った。研究は最初のにのり養殖期における本種の着生量の月別変化を調査し、次いで室内培養実験から本種の増殖に及ぼす環境諸要因の影響を明らかにした。以下、これらの知見に基づき本種の増殖要因を検討したので、その結果を報告する。

材料及び方法

のり養殖場における *C. closterium* の着生量の調査は、Fig. 1 に示したように下関市才川、王司、王喜地先

の養殖場に4定点を設けて行った。St. 1, 2, 4 は浮流し漁場、St. 3 は支柱漁場である。調査期間は1983年10月～1984年3月で、その方法としては1.0×1.5 m のクレモナ5号網を各定点に張り込んで1カ月ごとに張替え、1カ月ごとの着生量を測定した。着生量はのり網1 cm 当りに着生する細胞数に換算して示した。

培養実験に用いた材料は、1984年3月に下関市才川地先の養殖場でのり網に着生していたものを採集して直ちに実験室に持ち帰り、ピペット法で洗滌した後、PESSI¹⁾ (Provasoli's Enrich Seawater plus additional Silicate) で培養したものである。培養実験は10 ml の培養液を入れた径18 mm、高さ150 mm のネジ蓋試験管を用い、*C. closterium* が100 cells/ml になるように接種し、10, 15, 20°C の温度区で光条件などは前報^{1,2)} と同じで、温度、照度、塩素量、pH 及び栄養塩類の影響を調べた。培養は無菌条件で実施し、細菌検査はSTP_{ss}³⁾ (Sterilized Test Medium of Provasoli) 培地を用いて

*¹ 水産大学校 (Shimonoseki University of Fisheries, Yoshimi, Shimonoseki 759-65, Japan).

*² 岡山農林規格検査所 (Okayama Agricultural and Forestry Products Inspection Institute, Tenjin, Okayama 700, Japan).

*³ 中央出版(株) (Chuo Publishing Company, Nakaune, Kurashiki 710, Japan).

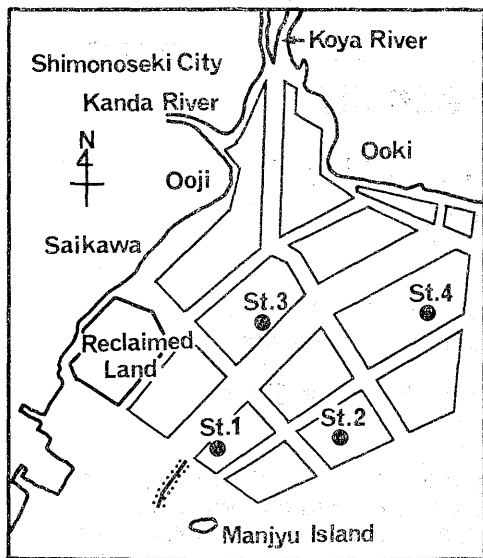


Fig. 1. Location of sampling stations of the nori cultivation ground.

行った。各図に示した増殖量は、温度の実験では細胞数で示し、その他の実験では Eppley⁴⁾ の式を用いて計算した1日当りの増殖率であらわした。

結果及び考察

C. closterium の月別量変化 のり養殖場に設けた4定点での *C. closterium* の着生量の月別変化を Fig. 2 に示した。本種の着生量を調べた4定点は、1980年12月に村上⁵⁾、平野⁶⁾の方法で流入する河川水の影響が調べられているが、それによると St. 1 は河川水の影響の弱い定点、St. 2 は St. 1 よりやや影響を受ける定点、St. 4 及び支柱漁場の St. 3 は河川水の影響の強い定点に分けられている。²⁾ 本種の月別量変化をみると、河川水の影響の強い St. 4 は10月から次第に増加して1月以降の水温の最も低い時期にやや減少したが、その他の定点では水温低下に伴い月を追って増加傾向を示した。その着生量は St. 1 が最も多く、次いで St. 2, 4 で、支柱漁場の St. 3 が最も少なかった。

培養条件と *C. closterium* の増殖

1. 温度: 本種の増殖と温度の関係を Fig. 3 に示した。温度は5~30°C の間に5°C ごとの6温度区を設けた。各温度区での増殖は5°C 区では極めて悪く、培養後17日経過したものをみると、細胞数は約800 cells/ml にすぎず、また30°C 区でも約 1×10^4 cells/ml で増殖が悪かった。しかし、その他の温度区では温度の上昇とともに増殖が活発になり、10°C で14日、15°C で10日、20°C で9日、25°C で7日後にそれぞれ増殖の定常期に達した。その時の細胞数はいずれも約 6.5×10^3 cells/

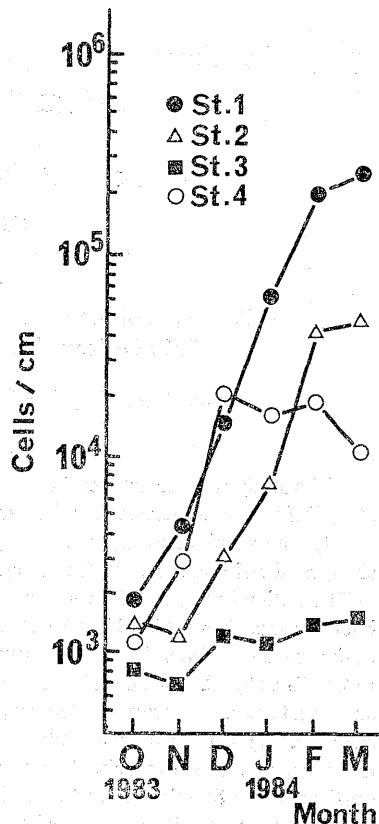


Fig. 2. Monthly changes of cell numbers of *Cylindrotheca closterium* attached to nori nets in the cultivation ground of Shimonoseki.

ml であった。

これらの結果から、本種の増殖は温度の違いによって定常期に達するまでの所要日数に違いがあったが、10~25°C で活発に行われることが認められた。下関市ののり養殖場における水温の周年変化をみると、²⁾ のり養殖期には9~20°C で変化している。この水温域では、今回の結果から本種の増殖はほぼ活発に行われていると推察される。従って本種の着生量は、水温低下にも拘らず各定点ともほぼ増加傾向を示したものと考えられる。

2. 照度: 本種の増殖と照度の関係を Fig. 4 に示した。10°C 区では2,000 lx 以上、15°C 区では3,000 lx 以上、25°C 区では2,000 lx 以上で増殖率が最大になり、20,000 lx までほぼ同じ増殖率であった。この結果を他の珪藻の照度の影響と比較すると、*Licmophora abbreviata* や *Meloiria nummuloides* では15°C 区で8,000 lx 以上、20°C 区で5,000 lx 以上、*Navicula directa prox.* では15°C 区で5,000 lx 以上、20°C 区で3,000 lx 以上で増殖量が最大になっており、²⁾ これらの種類よりやや低い照度で増殖が活発になることを認めた。

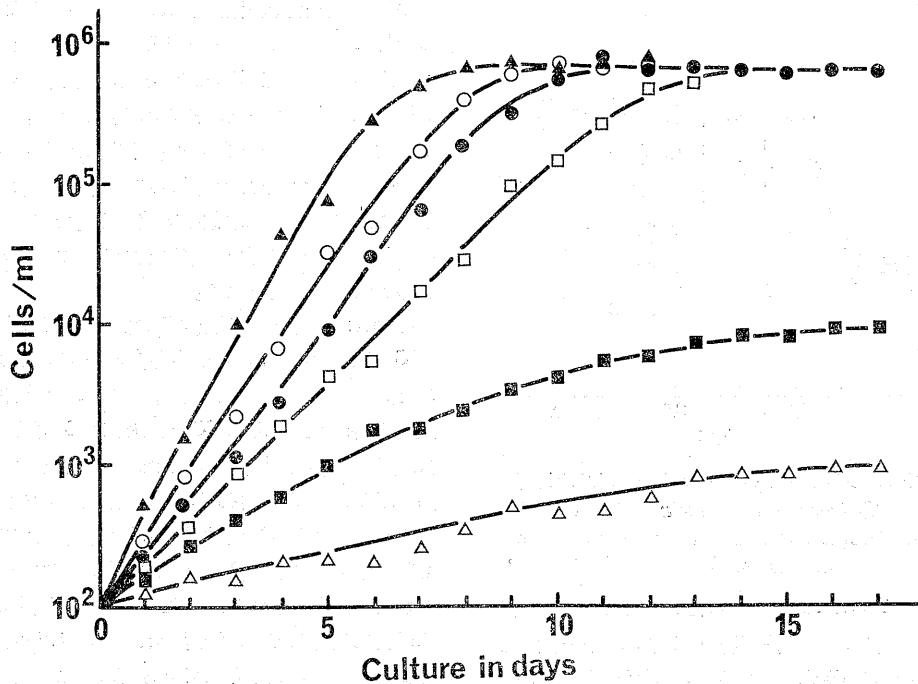


Fig. 3. Growth curves of *Cylindrotheca closterium* at different temperature, 5°C (△), 10°C (□), 15°C (●), 20°C (○), 25°C (▲) and 30°C (■), respectively.

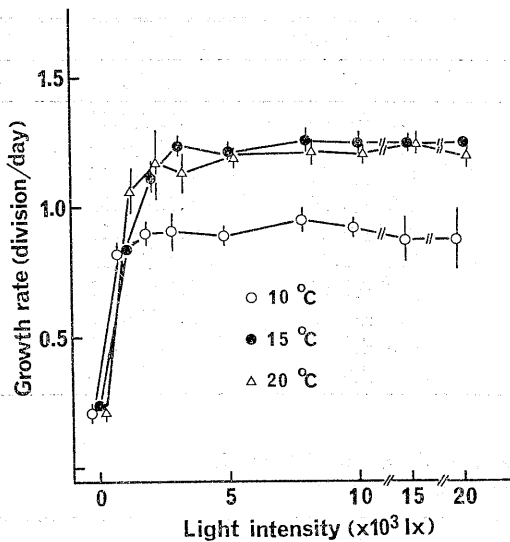


Fig. 4. The growth rate (division/day) of *Cylindrotheca closterium* under different light intensity at three different temperature. Each point is mean \pm S.D. of growth rates.

養殖場における本種の増殖に及ぼす照度の影響を考えると、養殖場では昼間の照度が一般に数万 lx 以上になるので、照度不足による増殖阻害はないと思われる。

3. 塩素量: 本種の増殖と塩素量の関係を Fig. 5 に示

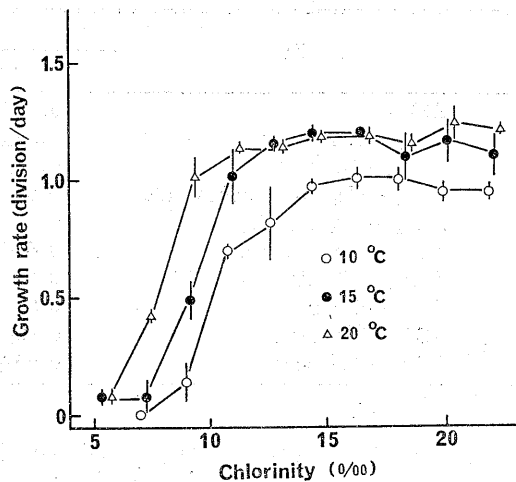


Fig. 5. The growth rate (division/day) of *Cylindrotheca closterium* at various chlorinity at three different temperature. Each point is mean \pm S.D. of growth rates.

した。10°C 区では 11.0‰ から増殖率が次第に高くなり、14.6~22.0‰ で最も高くなった。15°C 区では 9.2‰ から増殖が活発になり、13.5~22.0‰ で高い増殖率を示した。20°C 区では 10、15°C 区に比してより低い塩素量区から増殖が活発になる傾向があり、高い増殖率を示す

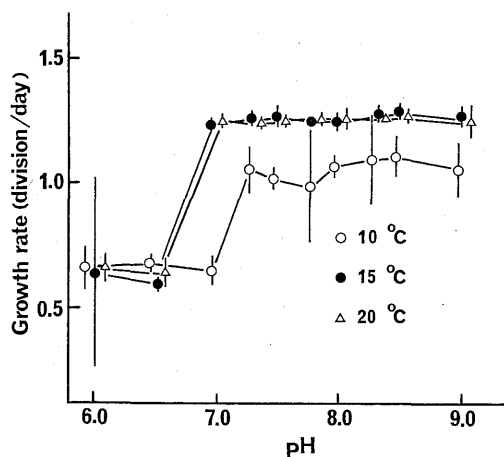


Fig. 6. Effect of pH on the growth rate (division/day) of *Cyndrotheca closterium* at three different temperature. Each point is mean \pm S.D. of growth rates.

塩素量域は 11.0~22.0‰ であった。このように本種は養殖場の海水 (塩素量 18‰ 前後) より低い塩素量から 22.0‰ という高い塩素量まで活発な増殖が行われ、塩素量の変化に対して強い順応性が認められた。また、本

種の増殖に好適な塩素量域は温度によって異なり、温度の上昇につれてより広くなる傾向がみられた。

以上から、本種は河口域から塩素量の高い沖合まで広い範囲に分布できると考えられる。しかし、Fig. 2 に示したように河川水の影響の強い浮流し漁場の St. 4 の月別量変化が、水温の最も低い時期に減少傾向を示している。これについては本種の増殖に好適な塩素量域が、水温の低下につれて低い塩素量区で次第に狭くなることと関係が深いと考えられる。

4. pH: 本種の増殖と pH の関係を Fig. 6 に示した。10°C 区では pH 7.0 まで増殖率が低いが、pH 7.3 になると急激に増殖が活発になり、pH 9.0 までほぼ同じ増殖率を示した。15, 20°C 区では 10°C 区よりやや低い pH 区から増殖が活発になった。すなわち pH 7.0 から高い増殖率を示し、pH 9.0 までほぼ同じであった。

養殖場の pH は通常 8.0~8.3 で変化している。従って養殖場での pH の変化は、本種の増殖に全く影響を及ぼさないと考えられる。また、のり網を張込んでのり葉体が密に生育している場所では pH が 8.5 以上に上昇する場合もあると報告されている⁷⁾が、このような場合でも増殖にはほとんど影響を受けないと考えられる。

Table 1. The growth rate (division/day) of *Cyndrotheca closterium* in ASP₁₂ media from which a certain nutrient was omitted previously at three different temperature

Media	Temperature		
	10°C	15°C	20°C
ASP ₁₂	0.76 \pm 0.08*	1.16 \pm 0.08	1.09 \pm 0.11
ASP ₁₂ -NaNO ₃	0.35 \pm 0.09	0.56 \pm 0.08	0.47 \pm 0.19
ASP ₁₂ -K ₃ PO ₄	0.64 \pm 0.11	1.10 \pm 0.07	1.19 \pm 0.14
ASP ₁₂ -Na ₂ ·Glycerophosphate	0.67 \pm 0.17	1.20 \pm 0.16	1.12 \pm 0.09
ASP ₁₂ -Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	0.78 \pm 0.07	0.93 \pm 0.11	0.95 \pm 0.11
ASP ₁₂ -Thiamine HCl	0.67 \pm 0.13	1.15 \pm 0.12	1.17 \pm 0.19
ASP ₁₂ -Vitamine B ₁₂	0.67 \pm 0.15	1.09 \pm 0.06	1.10 \pm 0.13
ASP ₁₂ -Biotin	0.80 \pm 0.13	1.12 \pm 0.09	1.12 \pm 0.12
ASP ₁₂ -PII metals	0.10 \pm 0.02	0.34 \pm 0.06	0.46 \pm 0.15
ASP ₁₂ -S2 metals	0.60 \pm 0.09	1.12 \pm 0.09	1.03 \pm 0.12

* mean \pm S.D.

Table 2. The growth rate (division/day) of *Cyndrotheca closterium* in ASP₁₂ media from which a certain metal was omitted previously at three temperature

Media	Temperature		
	10°C	15°C	20°C
ASP ₁₂	0.43 \pm 0.08*	1.09 \pm 0.09	1.03 \pm 0.12
ASP ₁₂ -Na ₂ EDTA	0.38 \pm 0.09	1.06 \pm 0.11	1.09 \pm 0.12
ASP ₁₂ -FeCl ₃	0.37 \pm 0.06	1.09 \pm 0.13	1.09 \pm 0.16
ASP ₁₂ -H ₃ BO ₃	0.16 \pm 0.04	0.22 \pm 0.12	0.31 \pm 0.21
ASP ₁₂ -ZnCl ₂	0.30 \pm 0.12	1.13 \pm 0.11	1.06 \pm 0.15
ASP ₁₂ -MnCl ₂	0.39 \pm 0.12	1.09 \pm 0.09	1.07 \pm 0.13
ASP ₁₂ -CoCl ₂	0.42 \pm 0.14	1.10 \pm 0.12	1.07 \pm 0.13

* mean \pm S.D.

5. 栄養塩類: 本種の増殖と栄養塩類の関係を Table 1 に示した。3 温度区における増殖は 10°C 区での増殖率がほかの 2 温度区より悪かったが、その増殖傾向はほぼ同じであった。すなわち人工海水 ASP₁₂ (Artificial Seawater of Provasoli) から NaNO₃, PII metals を除去すると増殖率が極端に低下し、Na₂SiO₃·9H₂O を除いたものでもやや低くなった。しかし、K₃PO₄, ビタミン類などはほとんど影響がみられなかった。

次に、PII metals が欠除すると本種の増殖率が極めて低下したので、PII metals に含まれる個々の金属の影響について検討し、その結果を Table 1 に示した。これによると本種は H₃BO₃ が欠除すると非常に増殖が悪かったが、ほかの金属については ASP₁₂ と同じような増殖率を示した。

このように本種の増殖には NaNO₃, H₃BO₃ が特に必要で、Na₂SiO₃·9H₂O も必要な要素であることを認めた。栄養塩類については *Licmophora abbreviata*, *L. paradoxa* 及び *Achnanthes longipes* などの着生珪藻の増殖にも NaNO₃, H₃BO₃ が特に必要であることが認められており、²⁾ 本種についてもこれらの種類と同様な結果が得られた。

下関市地先におけるのり養殖期の無機態窒素の年変動をみると、養殖初期 (10~11 月) に最も多く、中期 (12~1 月) から終期 (2~3 月) にかけて減少する。²⁾ 一方、硼酸は種々の微細藻類でその必要性が認められているが、⁸⁻¹⁰⁾ 海水中には硼素として海水 1 kg 中に 1 mg

以上存在する主要要素の一つである。従って養殖場では硼酸の不足による増殖阻害はまず考えられず、栄養塩の中では無機態窒素との関係が大きく、その増減が本種の増殖と最も密接な関係にあると推察される。しかし、本種の着生量の月別変化をみると、無機態窒素の豊富な養殖初期より最も少なくなる終期に着生量が多くなっている。この要因について、筆者等は海水中におけるほかの窒素源としてのりから同化産物として放出されるアミノ酸に着目し、その影響を検討した。

6. アミノ酸: アミノ酸の実験は、のりが産生する 16 種類のアミノ酸²⁾ を用い、これらのアミノ酸を人工海水 ASP₁₂ 100 ml に 1 mg それぞれ添加して培養した。その結果を Table 3 に示した。10°C 区では増殖率がやや低下したが、前項の栄養塩類の実験と同様に 3 温度区での増殖傾向は同じであった。すなわち各アミノ酸添加区での増殖率は各温度区とも ASP₁₂ のそれとほぼ同じで、アミノ酸の添加効果はほとんど認められなかった。

次に、ASP₁₂ から NaNO₃ を除去してアミノ酸を添加 (ASP₁₂ 100 ml 当り 1 mg) し、無機態窒素欠除の際のアミノ酸の影響を調べた。使用したアミノ酸は前報²⁾ と同じ 9 種類で、その結果を Table 4 に示した。各温度区とも無機態窒素が欠除すると増殖率が極めて低くなるが、アミノ酸添加によって ASP₁₂ と同じような増殖率を示すものもみられた。10°C 区ではアラニン、アスパラギン酸、アルギニンで ASP₁₂ と同じかそれ以上の増殖率を示し、グルタミン酸、ヒスチジンなども比較的高

Table 3. Difference of the growth rate (division/day) of *Cylindrotheca closterium* in ASP₁₂ and various media which was prepared by adding each amino acid of 1 mg to 100 ml of ASP₁₂ at three different temperature

Media	Temperature		
	10°C	15°C	20°C
ASP ₁₂	0.86±0.13*	1.18±0.11	1.20±0.24
ASP ₁₂ +Glycine	0.82±0.14	1.07±0.20	1.24±0.16
ASP ₁₂ +Alanine	0.90±0.10	1.21±0.12	1.13±0.15
ASP ₁₂ +Valine	0.68±0.12	1.20±0.04	1.19±0.18
ASP ₁₂ +Leucine	0.62±0.15	1.17±0.18	1.18±0.20
ASP ₁₂ +Isoleucine	0.84±0.05	1.15±0.15	1.14±0.18
ASP ₁₂ +Serine	0.70±0.11	1.13±0.13	1.19±0.16
ASP ₁₂ +Threonine	0.60±0.08	1.22±0.20	1.16±0.19
ASP ₃ +Proline	0.77±0.16	1.17±0.19	1.16±0.12
ASP ₁₂ +Methionine	0.71±0.13	1.09±0.17	1.07±0.09
ASP ₁₂ +Phenylalanine	0.82±0.12	1.23±0.21	1.20±0.23
ASP ₁₂ +Tyrosine	0.82±0.17	1.19±0.11	1.21±0.25
ASP ₁₂ +Asparatic acid	0.68±0.14	1.20±0.22	1.20±0.16
ASP ₁₂ +Glutamic acid	0.72±0.11	1.14±0.17	1.14±0.13
ASP ₁₂ +Lysine	0.73±0.07	1.19±0.13	1.15±0.19
ASP ₁₂ +Arginine	0.74±0.14	1.15±0.12	1.12±0.15
ASP ₁₂ +Histidine	0.90±0.13	1.15±0.09	1.18±0.12

* mean±S.D.

Table 4. Effect of amino acids on the growth rate (division/day) of *Cylindrotheca closterium* in medium which added each amino acid to ASP₁₂ omitted NaNO₃ at three different temperature

Media	Temperature		
	10°C	15°C	20°C
ASP ₁₂	0.83±0.14*	1.26±0.12	1.25±0.09
ASP ₁₂ omitted NaNO ₃	0.35±0.08	0.56±0.13	0.47±0.09
Alanine	0.98±0.14	1.25±0.23	1.18±0.18
Valine	0.51±0.16	0.88±0.18	1.18±0.21
Leucine	0.72±0.14	0.96±0.25	0.72±0.19
Methionine	0.34±0.13	0.62±0.14	0.68±0.15
Phenylalanine	0.41±0.09	0.55±0.16	0.70±0.12
Tyrosine	0.60±0.15	0.87±0.19	0.87±0.16
Asparatic acid	0.89±0.21	1.21±0.11	1.23±0.14
Glutamic acid	0.78±0.17	1.16±0.15	1.18±0.12
Arginine	0.88±0.20	1.25±0.13	1.25±0.15
Histidine	0.78±0.12	1.22±0.20	1.21±0.11

* mean±S.D.

い増殖率を示した。15, 20°C 区でも 10°C 区とほぼ同じ結果が得られた。

これらの結果から、本種は環境水に無機態窒素が豊富なときにはより産生のアミノ酸をほとんど利用しないが、無機態窒素が欠除するとアミノ酸を窒素源として利用することが明らかになった。従って養殖場において中期以降無機態窒素が減少するにも拘わらず本種の着生量が増加傾向を示したのは、より産生のアミノ酸を窒素源として利用し、その増殖が継続されるためと考えられる。

珪藻のアミノ酸の利用はこれまで多くの種類で確認されており、^{2,11-13} それらと同じことが認められた。また、その利用状態は *M. nummuloides*, *N. directa* prox. などの epilithic diatoms と同じように無機態窒素が欠除した際に主に利用され、²⁾ 海藻に多く着生する epiphytic diatoms である *L. abbreviata*, *Synedra gracilis* のように無機態窒素が豊富なとき及び欠除した場合の両条件下で利用する²⁾ 状態と若干異なった。

以上の養殖場における着生量の月別変化及び培養実験の結果を総合的に検討すると、本種の増殖は養殖初期には無機態窒素が豊富で水温も高く、塩素量や pH などの環境諸要因も好適であるので活発に行われる。中期以降になると水温が 10°C 前後まで低下するが、その影響は大きくないと思われ、また無機態窒素の減少時にはより産生のアミノ酸を窒素源として利用し増殖すると考えられる。これらからの養殖期間中は増殖が常に継続されているので、着生量が増加傾向を示すものと考えられる。しかし、本種は水温低下時において河川水の影響の

強い塩素量の低下する場所では、その増殖が抑制されると思われる。

本研究を行うにあたり御指導をいただいた水産大学校松井敏夫博士、鶴田新生教授に深謝します。

文 献

- 1) 大貝政治, 塚原 博, 松井敏夫, 中島和広: 日水誌, **50**, 1157-1163 (1984).
- 2) 大貝政治: 水大校研報, **34**, 170-222 (1986).
- 3) H. Iwasaki: *Plant and Cell Physiol.*, **6**, 325-336 (1965).
- 4) R. W. Eppley: in "The Biology of Diatoms" (ed. by D. Werner), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1977, pp. 24-45.
- 5) 村上彰男: 筑後川調査報告附属資料, No. 3, 1-15 (1968).
- 6) 平野敏行: 筑後川調査報告附属資料, No. 4, 21 (1969).
- 7) 今田 克, 安藤 真, 前木 樹: 日水誌, **35**, 362-378 (1969).
- 8) F. Herzinger: *Pflanzenernahrung*, **16**, 141-168 (1952).
- 9) C. Eyster: *Nature*, **170**, 755 (1952).
- 10) W. T. McIlarth and J. Skok: *Plant Physiol.*, **32**, suppl., xxiii (1959).
- 11) P. A. Wheeler, B. B. North, and G. C. Stephens: *Limnol. Oceanogr.*, **19**, 249-259 (1974).
- 12) M. S. Liu and J. A. Hellebust: *Can. J. Microbiol.*, **20**, 1109-1118 (1974).
- 13) 山田真知子, 新井義昭, 鶴田新生, 吉田陽一: 日水誌, **49**, 1445-1448 (1983).