

異なる水温条件下における二酸化ゲルマニウムの珪藻増殖 阻害効果

誌名	静岡県水産試験場研究報告 = Bulletin of the Shizuoka Prefectural Fisheries Experiment Station
ISSN	03863484
著者名	長谷川, 雅俊 關, 哲夫
発行元	静岡県水産試験場
巻/号	33号
掲載ページ	p. 23-25
発行年月	1998年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



異なる水温条件下における 二酸化ゲルマニウムの珪藻増殖阻害効果

長谷川雅俊*1・關 哲夫*2

Short Paper

The Inhibitory Effect on the Diatom Growth in
Different Temperature Conditions by Germanium
Dioxide

Masatoshi Hasegawa and Tetsuo Seki

キーワード：海藻種苗生産，珪藻除去，二酸化ゲルマニウム

海藻の種苗生産において珪藻が混入し繁茂すると、栄養塩類を消費するほか種苗の周囲を覆って生育を阻害する問題が生ずる。海藻の単離や系統を保存する小規模の培養では、培養液の滅菌処理に加えて二酸化ゲルマニウム（以下、 GeO_2 と称す）を添加して混入した珪藻を除去する方法^{1), 2)}が用いられている。大量の培養液を必要とする海藻の種苗生産では、オートクレーブによる滅菌処理ができず、珪藻の混入を防止することが更に困難となる。この場合にも GeO_2 を使用する方法が有効であると考えられる。

GeO_2 による珪藻除去に関して我が国では、切田¹⁾がサビノリ糸状体を25~28°Cで培養する過程で20~30日後に*Navicula*属珪藻が完全に除去されたことを報じている。また、館脇、水野²⁾は水温14°C14時間照明の条件下で10種の珪藻の相対生長を求め、 GeO_2 濃度5mg/lで8種の増殖が抑えられたことを報告している。しかし、褐藻類では1~5 mg/l以下の濃度で多くの種類の生長障害が認められ、²⁻⁵⁾ GeO_2 が細胞壁の形成を阻害することが確かめられている。⁶⁾ このため、褐藻類の生長が盛んになる水温条件下や細胞壁の構築が旺盛な発育段階に対して GeO_2 処理を行う場合には、処理後の影響を確認しなければなら

ない。褐藻類への影響を確認するに先立って、 GeO_2 の珪藻増殖阻害効果を異なる水温条件下で確認する必要がある。

筆者らは褐藻類の種苗生産技術の確立を念頭に置き、ワカメの配偶体の培養条件下で混入した珪藻に対する増殖阻害効果を異なる温度条件で検討したので報告する。

報告に先立ち、実験に御協力いただいた東北区水産研究所藻類増殖研究室臨時職員猪股桂子氏に感謝申し上げる。

実験1 異なる水温条件下における二酸化ゲルマニウムの珪藻増殖抑制効果

実験には、東北区水産研究所で保存培養していたワカメ配偶体（フリーリビング）とそれに混入していた珪藻（*Navicula*属2種）を用いた。ワカメ配偶体を入れた容器に珪藻を混入させ、 GeO_2 を含む培養液（ GeO_2 処理区）と培養液のみ（無処理区）を用いて、11°Cと20°Cの温度条件のもとで培養し、珪藻の細胞数を調べた。

培養には外径60mm高さ20mmのシャーレを用い、珪藻の観察のため、径15mmの円形カバーガラスをシャーレ底部に設置した。 GeO_2 処理区、無処理区ともそれぞれの温

第1表 二酸化ゲルマニウム濃度5mg/lのときの珪藻の培養結果*1

種	相対成長単位*2	培養日数	培養条件	備考
<i>Navicula</i> spp.	-5.97 (%)	25	水温11℃自然光	本研究
<i>Navicula</i> spp.	0.04	25	水温20℃自然光	本研究
<i>Achnanthes brevipes</i> var. <i>intermedia</i>	0.6	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Cheatocecos simplex</i> var. <i>calcitrans</i>	0.1	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Gomphonema kamtschaticum</i>	0.8	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Licmophora gracilis</i> var. <i>anglica</i>	0.5	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Licmophora tenuis</i>	0.4	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Licmophora</i> sp.	0.5	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Melosira nummuloides</i>	3	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Navicula</i> sp. No.1	1	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Navicula</i> sp. No.2	0.5	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	4	14	水温14℃14時間照明	館脇・水野 (1979)

*1 館脇・水野 (1979) に本実験結果を追加

*2 相対成長単位 (relative growth unit) = (GeO₂処理区の実験終了時の細胞数 - 開始時の細胞数) / (無処理区の実験終了時の細胞数 - 開始時の細胞数) × 100, 本実験の場合は開始時の細胞数は開始3日後のGeO₂処理区の細胞数で代用。

度条件にシャーレ3個ずつを用い、室内北側の窓からの自然光 (日中最大照度1,000lux) で培養した。培養液は東北区水産研究所藻類増殖研究室で海藻保存用に使用していたもの (海水1lに対し, NaNO₃ 1mg, Na₂HPO₄ · 12H₂O 0.02mg) を用いた。GeO₂の原溶液はChapmanの方法⁷⁾に従って作成し、濃度5mg/lとなるよう培養液に加えた。

珪藻の観察は、培養を始めた1996年10月4日から3日目、7日目、11日目、18日目、25日目に行った。観察はシャーレから円形カバーグラスを取り出して検鏡した。珪藻の細胞数の計数は、顕微鏡のステージを縦横に等間隔に移動して円形カバーグラスの表面9箇所について行った。検鏡の倍率は200倍で、観察1箇所の面積は0.7072mm²である。10月22日 (18日目) には検鏡によりワカメ配偶体の生死を確認した。

実験期間中の珪藻細胞数の推移を第1図に示した。GeO₂処理区の珪藻細胞数は期間中に顕著に増加することではなく、11℃では平均18.4細胞、20℃では平均28.0細胞にとどまった。一方、無処理区では11℃の場合平均47.6細胞の水準を保って経過したが、20℃では18日目以降に増殖が著しくなり、観察を終了した25日目には平均201.7細胞となった。実験開始後18日目の配偶体は生存しており、生卵器が形成されていた。配偶体には、GeO₂処理区、無処理区とも珪藻の付着が認められたが、GeO₂処理による珪藻の増殖抑制効果は明らかであった。

また、実験期間中の相対生長単位を求め、館脇・水野²⁾の結果と比べた (第1表)。本研究でも、同じGeO₂濃度条件で、混入した2種の*Navicula*属珪藻について25日目の相対生長単位が、水温11℃で-5.97、水温20℃で0.04となり、水温や光の異なる条件下でもGeO₂による珪藻の増殖

第2表 二酸化ゲルマニウム処理^{*)}を受けた珪藻 (*Navicula* spp.) の再増殖能力

実験区	11月1日細胞数*2	11月25日細胞数
11℃区	18.4 ± 12.9	15.9 ± 7.9
20℃区	20.5 ± 8.1	21.6 ± 21.9

*1 5mg/l, 25日間

*2 cells/0.7072mm², 平均 ± 標準偏差

抑制効果は顕著に発現することが示された。

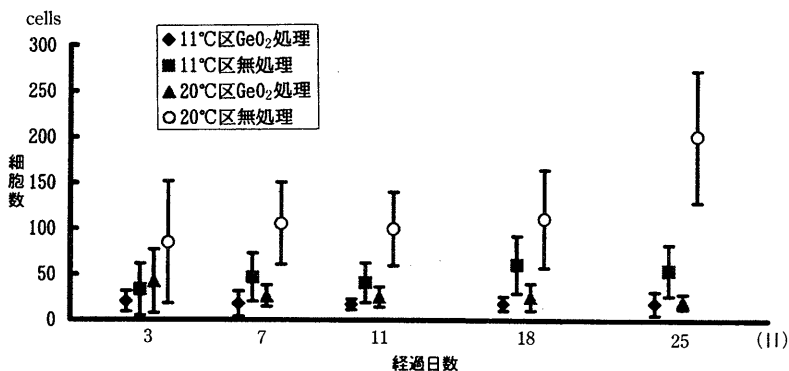
実験2 二酸化ゲルマニウム処理後の再増殖能の確認

GeO₂処理を受けた珪藻をGeO₂を含まない海水培地に戻し、再び増殖するかどうかを確認する培養を行った。11月1日に、実験1でGeO₂処理した11℃及び20℃区のそれぞれ3個のシャーレから円形カバーグラスを各1枚取り上げ、GeO₂を含まない培地を入れたシャーレに移し、GeO₂処理時と同じ水温条件を保って培養した。11月25日に珪藻の細胞数を計数した。

結果を第2表に示した。実験1でGeO₂処理を11℃で25日間行ったカバーグラス上の珪藻は、11月1日に平均18.4細胞であったが、11月25日の実験終了時には平均15.9細胞となった。また、20℃でGeO₂処理したカバーグラス上の珪藻は11月1日に平均20.5細胞であったが、実験終了時には平均21.6細胞であった。以上のように11℃と20℃のどちらの温度条件区においても再増殖能力が失われていることが確認できた。

切田¹⁾は*Navicula*属珪藻が除去されたと報告しているが、これは増殖しなくなった珪藻細胞が、25~28℃の極めて代謝活性の高い水温条件下で短期間に斃死し分解した現象と考えられる。GeO₂の珪藻に対する作用は、ゲル

二酸化ゲルマニウムの珪藻増殖阻害



第1図 珪藻 (*Navicula* spp.) 細胞数の推移
(cells/0.7072mm², 平均±標準偏差)

マニウムがケイ素の吸収や既に取り込んだケイ素の代謝を阻害し、その結果として、DNA、蛋白あるいはクロロフィルの代謝に影響することが明らかにされている。⁸⁻¹⁰⁾したがって、GeO₂処理では細胞数が減少することはなく、増殖能力を失った珪藻が二次的に消失していくものと考えられる。

館脇・水野²⁾は、GeO₂の効果が珪藻の増殖抑制と再増殖の阻害であることを報告している。本研究でも、実験1により増殖抑制効果が確認され、実験2により再増殖能力が失われていることを確認できた。したがって、GeO₂の珪藻除去効果は11°C~28°Cの広い範囲にわたって有効であるものと考えられる。

GeO₂処理を褐藻類の種苗生産に適用する技術として確立するためには、今後、褐藻の生育を阻害しない5mg/l以下のGeO₂有効濃度と処理期間を珪藻の種による違いや珪藻や褐藻の存在量の影響も含めて検討していく必要がある。

文 献

- 1) 切田正憲 (1970) : 除珪藻剤酸化ゲルマニウムがサビノリfree-living糸状体の生育におよぼす影響, 藻類, 18, 167~170.
- 2) 館脇正和・水野真 (1979) : 藻類各種, 特に褐藻類に対する二酸化ゲルマニウムの成長阻害, 藻類, 27, 205~212.
- 3) McLachlan, J., Chen, L. C. M. and Edelstein, T. (1971) : The culture of four species of *Fucus* under laboratory conditions, Can. J. Bot., 49, 1463~1469.
- 4) Hopkin, R. and Kain, J. M. (1978) : The effects of some pollutants on the survival, growth and respiration of *Laminaria hyperborea*, Est. Coast. Mar. Sci., 7, 531~553.
- 5) Markaham, W. and Hagmeier, E. (1982) : Observation on the effects germanium dioxide on the growth of macro-algae and diatoms, Phycologia, 21, 125~130.
- 6) Wang, X. Y. (1993) : Morphological study on the inhibitory effect of germanium dioxide on growth and development of brown algae, Sci. Paper. Algal. Res., Fac. of Sci., Hokkaido Univ., 9 (1), 33~91.
- 7) 館脇正和 (1979) : 培地の作り方, 藻類研究法 (西澤一俊・千原光雄編), 共立出版, 東京, 37~39.
- 8) Darley, W. M. and Volcani, B. E. (1969) : Role of silicon in diatom metabolism, A silicon requirement for deoxyribonucleic acid synthesis in the diatom *Cylindrotheca fusiformis* Reimann and Lewin, Exp. Cell Res., 58, 334~342.
- 9) Azam, F., Hemmingsen, B. B. and Volcani, B. E. (1973) : Germanium incorporation into the silica of diatom cell walls, Arch. Microbiol., 92, 11~20.
- 10) Chiappino, M. L., Azam, F. and Volcani, B. E. (1977) : Effect of germanic acid on developing cell walls of diatoms, Protoplasma, 93, 191~204.