浮遊珪藻 *Skeletonema costatum* (GREVILLE) CLEVE の 増殖に及ぼす塩素量の影響^{*1}

鶴田新生・大貝政治・上野俊士郎・山田真知子

(1985 年 5 月 7 日受理)

The Effect of the Chlorinity on the Growth of Planktonic Diatom *Skeletonema costatum* (GREVILLE) CLEVE *in vitro*

Arao TSURUTA,^{*2} Masaharu OHGAI,^{*2} Syunshiroh UENO,^{*2}
and Machiko YAMADA^{*3}

This study dealt with the influence of chlorinity on the growth of *Skeletonema costatum*, which was collected from the Yatsushiro Sea and Dokai Bay, in the laboratory culture. The culture was kept in the incubator at six different temperatures.

Two types of cultivation showed good growth at 25°C and the optimal chlorinity ranged from 14.8‰ to 20.1‰ in Yatsushiro type, and from 12.7‰ to 20.1‰ in Dokai type. At the other temperatures, the range of optimal chlorinity was found to show a little variation in each type.

The cell diameter and the length of pervalvar axis varied with the chlorinity and the temperature, and it was found that there was a striking difference in the two types.

Therefore, it was considered that both types of *S. costatum* were ecotypes adapted to the different water quality at the collecting stations.

Skeletonema costatum は珪藻綱、中心目に属する浮遊性の珪藻で、沿岸及び内湾の富栄養化とともにその水域での出現量が多くなる傾向にある。山田ら¹⁻³⁾は、この傾向を利用して本種の増殖に及ぼす工場排水、都市排水などの影響を調べ、本種を環境汚染指標種として水域の環境診断に用いる試みを行なっている。このように本種が環境汚染指標種として注目されているにも拘わらず、その基礎的な生理特性を研究した事例は極めて少ない。

このようなことから、筆者らは環境傾度と生物適応に関する研究の一環として、本種についての環境要因の影響を検討しているが、今回は異なった2つの水域で採集した *S. costatum* の増殖に及ぼす塩素量の影響を実験した。その結果、採集水域の違いによって増殖反応がそれぞれ異なることなどを認めたので報告する。

材料及び方法

実験に用いた *S. costatum* は、1984 年 1 月に八代海(八代港)及び洞海湾(黒崎地区)でそれぞれネット採集

したプランクトンから選別し単種培養したものである。培養液は、Table 1 に示した ES enrichment⁴⁾ を海水 100 ml 中に 2 ml 加えた PESSi (塩素量を 18.3‰ に調整)を用いた。尚、実験は無菌条件で実施し、細菌検査は STP₈₈ 培地⁵⁾を用いて行なった。

塩素量は、普通海水(塩素量 18.3‰)と蒸留水を混合して 0.3~1.0 倍及び海水を 70~80°C に加熱濃縮した 1.2 倍までの 10 濃度区を設けた。培養温度は、5~30°C の間に 5°C ごとの 6 温度区であった。光条件は照度 4,500~5,000 lx (光源は白色蛍光灯)、1 日 12 時間照明とした。

実験は径 18 mm、高さ 150 mm のネジ口試験管にそれぞれ 10 ml の培養液を入れ、この中に 100 cells/ml になるように *S. costatum* 株を接種して、6 日間培養を行なって各試験管の細胞数を計測した。尚、1 区の検体は同時に 3 本とし、同じ実験を 2~3 回繰り返して行なった。また、形態的差異を調べるため、マイクロメーターを用い実験した各試験管中の *S. costatum* 50 細胞について、それぞれ殻径と貫殻軸長を測定した。

^{*1} 本研究の一部は文部省科学研究費補助金によった。

^{*2} 水産大学校 (Shimonoseki University Fisheries, Yoshimi, Shimonoseki 795-65, Japan).

^{*3} 北九州市環境衛生研究所 (Kitakyushu Municipal Institute of Environmental Health Sciences, Kitakyushu 804, Japan).

Table 1. Composition of Provasoli's ES enrichment

Distilled water	100 ml
NaNO ₃	350 mg
Na ₂ -glycerophosphate	50 mg
Fe-EDTA	2.5 mg
P II metals*	25 ml
Vitamin B ₁₂	10 µg
Thiamine HCl	0.5 mg
Biotin	5 µg
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	500 mg
TRIS	500 mg
pH	7.8

* One ml of PII metals contains: ethylenediamine tetraacetic acid, 1 mg; Fe (as Cl), 0.01 mg; B (as H₃BO₃), 0.2 mg; Mn (as Cl), 0.04 mg; Zn (as Cl), 0.005 mg; Co (as Cl), 0.001 mg.

Fig. 1. Growth rates (division/day) at various kinds of chlorinity on *Skeletonema costatum* collected from the Yatsushiro Sea. Growth rates of 5, 10, 15, 20, 25 and 30°C are represented by Δ , $\blacktriangle$, $\circ$, $\bullet$, $\square$ and $\blacksquare$, respectively. Each point indicates mean value of six growth rates and each vertical bar shows the SD.

実験結果

八代海産及び洞海湾産の2培養株の増殖と塩素量の関係を日間分裂率で Fig. 1, 2 に示した。日間分裂率は EPPLEY⁸⁾ の式を用いて計算した。八代海産株では、1.5 division/day を超える高い分裂率が 25°C の 14.8~20.1‰ の塩素量域で得られた。他の温度区をみると、5°C では分裂率が低かったが、温度の上昇に伴って分裂率が高くなり、30°C になると再び低下した。これらの温度区ではいずれも 15‰ 前後の塩素量域で高い分裂率

Fig. 2. Growth rates (division/day) at various kinds of chlorinity on *Skeletonema costatum* collected from the Dokai Bay. Growth rates of 5, 10, 15, 20, 25 and 30°C are represented by Δ , $\blacktriangle$, $\circ$, $\bullet$, $\square$ and $\blacksquare$, respectively. Each point indicates mean value of six growth rates and each vertical bar shows the SD.

が得られた。一方、洞海湾産株では前産株と同じく 25°C で分裂率が最も高かったが、その塩素量域は 12.7~20.1‰ と広く、分裂率も約 1.75 division/day を示した。本産株も 5°C では分裂率が低く、温度の上昇につれて分裂率が高まり、30°C では再び低下した。八代海産株と比較すると、各温度区とも低塩素量域では分裂率が低くなったが、分裂率が高い塩素量域は洞海湾産株の方が広くなる傾向がみられた。

同じ培養実験で得た八代海、洞海湾産の培養株の細胞の殻径と貫殻軸長の測定結果をそれぞれ Fig. 3, 4 に示した。殻径は両株間で大きく相違し、最も高い分裂率が得られた 25°C の実験区では八代海産株が 15~19 µm、洞海湾産株が 3~5 µm であった。八代海産株の殻径は高温区になるほど小さくなる傾向にあり、洞海湾産株についてはそのような傾向はみられず、各温度区ともほぼ同じ大きさであった。

一方、貫殻軸長は殻径と同じく八代海産株が洞海湾産株より長かったが、両株とも好適な塩素量域では長くなる傾向がみられた。また、八代海産株では高温になるほど軸長の増大があり、洞海湾産株では 20°C 以上の温度区で軸長が長くなった。

考察

実験材料の採集水域の塩素量は、八代海が 16.6~18.7‰ の間で年変動し、洞海湾が 14.1~17.8‰ で変動する。本研究結果の塩素量と分裂率の関係をみると、

Fig. 3. Difference of the cell diameter and the length of pervalvar axis at various kinds of chlorinity on *Skeletonema costatum* collected from the Yatsushiro Sea. Closed circles indicate cell diameter and open circles length of pervalvar axis. Each point is mean value of their length and each vertical bar represents a range between maximum and minimum of their length in fifty cells.

Fig. 4. Difference of the cell diameter and the length of pervalvar axis at various kinds of chlorinity on *Skeletonema costatum* collected from the Dokai Bay. Closed circles indicate cell diameter and open circles length of pervalvar axis. Each point is mean value of their length and each vertical bar represents a range between maximum and minimum of their length in fifty cells.

細胞分裂の最も盛んな 25°C 区で八代海産株が 14.8~20.1‰, 洞海湾産が 12.7~20.1‰ の間で分裂率が高く, 洞海湾産の方がやや広がった。その他の温度区でも高い分裂率を示す塩素量域にやや違いがあった。これは

採集水域の塩素量の年変動の差に起因していると思われる。それぞれの培養株がその水域の環境に適応した生理特性を保有しているためと考えられる。今回得られた両株の増殖好適塩素量域は、松江⁹⁾の報告した 13.3~

19.9‰ とほぼ一致し, TAKANO¹⁰⁾ の 11‰ に比してやや高いが, これらの結果は各採集水域の塩素量の違いに主な原因があると考えられる。従って, 今後 *S. costatum* を水域の環境汚染指標種として取り扱い場合などには, このような生理特性の存在に留意する必要を認めた。

両培養株の細胞の大きさは貫殻軸長にも違いがあったが, 最も顕著な差違が殻径においてみられた。殻径は分裂周期に影響されない珪藻細胞の基本的な大きさである。両株間の分裂率の相違と関連させて考えると, 殻径が大きな八代海産株よりも殻径が小さい洞海湾産株の方が塩素量変化に対して敏感な増殖反応を示し, 好適な塩素量域では分裂率が高かった。一般に植物プランクトンの分裂率は, 種類間を比較して細胞の大きさに相関があると言われている。¹¹⁻¹³⁾ 一方, 種類内では PAASCHE¹⁴⁾ が *S. costatum* のクローン培養から, 分裂率は細胞の大きさと殆んど関係がないと報告している。本研究結果は種類間ばかりでなく, 種類内でも異なった水域で採集した培養株により分裂率が相違することを示している。

以上の結果から, 八代海産株及び洞海湾産株は, それぞれの水質環境に適応した生態型 (ecotype) をもっていると推察される。

文 献

- 1) 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一: 日水誌, **46**, 1435-1438 (1980).
- 2) 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一: 日水誌, **46**, 1439-1444 (1980).
- 3) 山田真知子・鶴田新生・吉田陽一: 日水誌, **48**, 1129-1132 (1982).
- 4) 山田真知子・武居 薫・鶴田新生: 日水誌, **48**, 1453-1456 (1982).
- 5) 山田真知子・武居 薫・鶴田新生: 日水誌, **48**, 1457-1461 (1982).
- 6) L. PROVASOLI: *Cultures and collections of algae*, Proc. U.S.-Japan Conf. Hakone, Sept., 1966, (ed. by A. WATANABE and A. HATTORI), Japan Soc. Plant Physiol., 63-75 (1968).
- 7) H. IWASAKI: *Plant and Cell Physiol.*, **6**, 325-336 (1965).
- 8) R. W. EPPLEY: in "The Biology of Diatoms" (ed. by D. WERNER), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1977, pp. 24-45.
- 9) 松江吉行: 水産学の概観, 日本学術振興会, 東京, 1954, pp. 41.
- 10) H. TAKANO: *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, **37**, 17-25 (1963).
- 11) R. W. EPPLEY and P. R. SLOAN: *Physiologia Pl.*, **19**, 47-59 (1966).
- 12) D. WERNER: *Helgoländer wiss. Meeresunters.*, **20**, 97-103 (1970).
- 13) R. B. WILLIAMS: *Ecology*, **45**, 877-880 (1964).
- 14) E. PAASCHE: *Norw. J. Bot.*, **20**, 197-204 (1973).