

VII-264

懸濁および堆積カオリン粒子がワカメ遊走子の着生と生長に及ぼす影響

宮崎大学工学部 (正) 鈴木祥広
宮崎大学工学部 (正) 丸山俊朗
宮崎大学工学部 (学) 高見 徹

1. はじめに

近年, わが国の海藻群落・藻場は衰退の一途をたどっており, 沿岸環境を保全・修復するための重要な問題となっている。海藻群落・藻場が形成されて維持されるためには, 海藻の生殖細胞である胞子および遊走子が基質に確実に着生することが最も基本的な条件である。著者らは, 紅藻ササビノリ (*Porphyra yezoyensis* Ueda) の殻胞子を供試体として, 殻胞子の基質への着生に対する懸濁粒子の影響をカオリン粒子を用いて検討し, 影響を与える粒子濃度は堆積粒子量として $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ と極めて低いことを報告した¹⁾。懸濁粒子の存否は, 海藻の胞子および遊走子が着生できるか否かを左右する重要な因子である。海藻群落・藻場の保全を目的とする懸濁粒子の負荷削減の対策, 基準値等の策定には, 懸濁粒子の海藻に及ぼす影響に関する知見の集積が必要である。

本研究では, わが国の藻場を構成する海藻の一種である褐藻ワカメ (*Undaria pinnatifida* (Haye) Surigar) の遊走子を供試体とし, 遊走子に対する懸濁粒子の影響について, カオリンをモデル粒子として用い, 着生遊走子数と芽胞体数の測定から検討した。さらに, ワカメ遊走子とササビノリ殻胞子の懸濁粒子に対する抵抗性について考察した。

2. 材料と方法

(1) 材料と方法

懸濁粒子が遊走子の基質への着生とそれに続く生長に及ぼす物理的な影響を明らかにするため, 粘土粒子であるカオリン(白陶土, ㈱和光純薬工業)を用いた。カオリンの平均粒径は, フロー式粒子画像分析装置(FPIA-1000, 東亜医用電子社製)で測定した結果, $1.9 \mu\text{m}$ であった。

カオリン懸濁海水は1/20PES培地(Provasoli氏の強化海水の栄養塩類濃度を1/20濃度に調製した培地)にカオリンを加えて作成し, 懸濁カオリン粒子が沈降し, 堆積したときに $1\sim 100 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ になるように添加した。ワカメ遊走子は, 宮崎県青島沿岸で採取したワカメ成熟葉体の胞子葉から遊走子を放出させた。この遊走子懸濁液の細胞密度を顕微鏡で計数し, 注入量を決定した。

着生実験は, 培養ウェルプレート(Cell-Wells, Corning社製, 底面積 9.40cm^2) 底面に基質としてカバーガラス(武藤化学社製, $10\text{mm} \times 10\text{mm}$)を置き, 遊走子数約 2×10^4 個の遊走子およびカオリン粒子を自然沈降させた。カオリン懸濁海水と遊走子懸濁液の総容量を 10ml とした。

懸濁粒子が遊走子の着生に影響を及ぼす現象について, 自然条件下で起こり得る遊走子に対する懸濁粒子の物理的な影響を次のように再現した。

ケース1: カバーガラスを設置した培養ウェルプレートにカオリン懸濁海水と遊走子懸濁液を同時に注入した。

ケース2: カバーガラスを設置した培養ウェルプレートにカオリン懸濁海水を注入後24時間静置してカオリン粒子を沈降させ, その上に遊走子懸濁液を静かに注入した。

ケース3: カバーガラスを設置した培養ウェルプレートに遊走子懸濁液を注入後24時間放置して遊走子をカバーガラスに着生させてから, その上にカオリン懸濁海水を静かに注入した。

各ケースの対照区として1/20PES培地のみを用いてカバーガラス上に遊走子を着生させた。培養条件は水温 15°C , 光量子密度 $140 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ (約 7000lux), 明暗期 $10\text{hL}:14\text{hD}$ とした。試験開始から24時間後の遊走子着生数と24日後の芽胞体数を測定した。

着生数と芽胞体数に対するカオリン粒子の影響を定量的

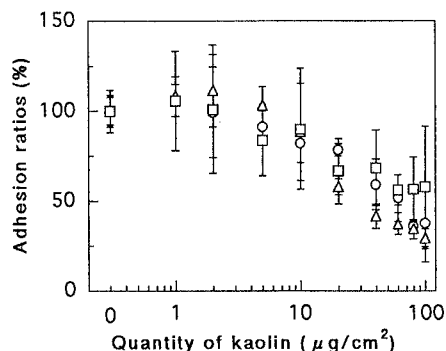


図-1. 24時間後におけるワカメ遊走子の着生に及ぼすカオリンの影響 ($n=3$, エラーバーはSDを示す)
○: ケース1, △: ケース2, □: ケース3.

キーワード: 懸濁物質, 遊走子, 着生, ワカメ

〒889-21 宮崎市学園木花台西1-1 TEL 0985-58-2811 FAX 0985-58-1673

に評価するため、最小影響濃度（Lowest-Observed-Effect Concentration, LOEC）および半数影響濃度（50% of Effective Concentration, EC_{50} ）を求めた。

3. 結果と考察

3-1 遊走子の着生に及ぼす影響

前述の3つのケースについて、試験開始から24時間後におけるカオリン粒子濃度とカバーガラスへの着生率の関係を図-1に示した。

24時間後に遊走子の着生が最も阻害された条件は、ケース2の堆積したカオリン粒子上に遊走子を添加した場合である。粒子濃度が1~10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の範囲では着生阻害は認められず、20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ からは濃度とともに着生率が低下し、着生率は粒子濃度100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で対照区の30%に低下した。ケース2の着生率から判定した24時間後のLOECと EC_{50} （24h-LOECと24h- EC_{50} ）は、それぞれ20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

次いで着生が阻害された条件は、ケース1のカオリンと遊走子を同時に添加した場合であり、24h-LOECと24h- EC_{50} は、それぞれ40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と61 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。これらに対して、ケース3のカバーガラス上に着生した遊走子上に懸濁粒子を添加した場合では、阻害作用が最も小さく、LOECの解析結果からは1~100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の試験濃度区では、影響はないと判定された。

3-2 芽胞体の形成に及ぼす影響

遊走子から芽胞体に生長する過程における懸濁および堆積粒子の影響を知るため、図-2には、24日後における3つのケースの芽胞体形成率を示した。芽胞体の形成が最も阻害されたのはケース1の場合である。粒子濃度20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ で急激に形成率が低下し、対照区の49%に低下した。ケース1の芽胞体形成率から判定した24日後のLOECと EC_{50} （24d-LOECと24d- EC_{50} ）は、それぞれ20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と19 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。

次いで芽胞体の形成が阻害されたのはケース3の場合であり、24d-LOECと24d- EC_{50} は、それぞれ40 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と46 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。遊走子の着生試験の結果では、ケース3は影響が認められなかったが、芽胞体の形成が阻害されることがわかった。ケース2の場合は、芽胞体の形成については最も阻害作用が小さかった。

3-3 ワカメ遊走子とスサビノリ殻胞子の着生に及ぼすカオリン粒子の影響濃度の比較

本研究で得られたワカメ遊走子と前報¹⁾で報告したスサビノリ殻胞子のカオリン粒子の影響濃度（24h-LOEC, 24h- EC_{50} ）を表-1に示した。これらの影響試験に用いた材料は、供試体以外はすべて同一であり、実験・評価方法も同一である。カオリン粒子の着生に対する影響濃度を比較すると、3つのいずれのケースにおいても24h-LOECと24h- EC_{50} は、殻胞子よりも遊走子の方がワンオーダー高い。すなわち、遊走子は懸濁および堆積粒子に対して殻胞子よりも抵抗性が著しく強いことを示している。

4. まとめ

- (1) 遊走子の着生が最も阻害されたケースは、カオリン粒子が基質上に堆積している上に遊走子が到達した場合であり、24h-LOECと24h- EC_{50} は、それぞれ20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と29 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と見積もられた。
- (2) 芽胞体の形成が最も阻害されたケースは、遊走子とカオリン粒子が同時に混合した場合であり、芽胞体形成率から判定した24d-LOECと24d- EC_{50} は、それぞれ20 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ と19 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。
- (3) カオリン粒子がワカメ遊走子およびスサビノリ殻胞子の基質への着生に影響を及ぼす濃度を比較すると、本研究で再現した3つのいずれのケースにおいても24h-LOECと24h- EC_{50} は、遊走子の方がワンオーダー高かった。すなわち、遊走子は懸濁および堆積粒子に対して殻胞子よりも抵抗性が著しく強いことが示された。

参考文献

- 1) 鈴木ら：懸濁および堆積カオリン粒子がスサビノリ殻胞子の着生と発芽に及ぼす影響，土木学会論文集，No.559/Ⅶ-2，73-79，1997。

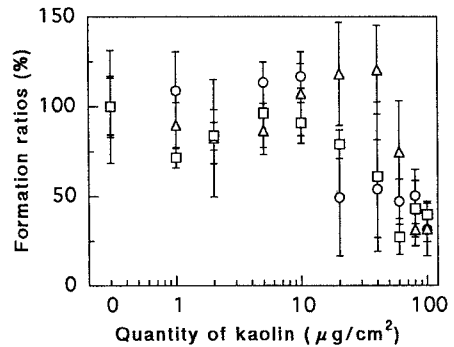


図-2. 24日間後におけるカオリン粒子量と芽胞体形成率の関係（ $n=3$ ，エラーバーはSDを示す）
○：ケース1，△：ケース2，□：ケース3。

表-1. ワカメ遊走子とノリ殻胞子の着生に及ぼすカオリン粒子の影響濃度（ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ）

条件	24h-LOEC		24h- EC_{50}	
	遊走子	殻胞子	遊走子	殻胞子
ケース1	40	5	61	3
ケース2	20	1	29	5
ケース3	>100	10	>100	28