

サガラメ *Eisenia nipponica* 幼胞子体の硝酸態窒素吸収特性Nitrate uptake characteristics in juvenile sporophytes of *Eisenia nipponica* (Phaeophyceae)二村和視¹・清水一輝¹・野田浩之²・岡本一利³

Kazumi NIMURA, Kazuki SHIMIZU, Hiroyuki NODA and Kazutoshi OKAMOTO

Abstract

Nutrient-rich deep-seawater has been pumped from Suruga Bay to a coastal site of Yaizu city, Shizuoka Prefecture. The deep-seawater contains high amounts of nitrate and it potentially alleviates nutrient limitation of seaweed growth. In this study, the effects of nitrate concentration, irradiance, and water temperature on nitrate uptake rate in juvenile *Eisenia nipponica* sporophytes were investigated. Nitrate uptake kinetics were fitted with Michaelis–Menten's equation. The maximum nitrate uptake rate (V_{max}) and half-saturation concentrations (K_s) were $0.024 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ and $11.3 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectively. The relationship between the nitrate uptake rate and irradiance exhibited an exponential curve, and the maximum uptake rate was $0.033 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$, at an irradiance of $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Under dark conditions, no nitrate uptake was observed. The effect of water temperature on the nitrate uptake rate was parabolic curves showing a maximum nitrate uptake rate of around 13.5°C . Since nitrate concentrations in the Suruga Bay deep-seawater were consistently higher than $20 \mu\text{mol L}^{-1}$, the deep-seawater has a great potential to meet the nitrate demand of *E. nipponica* sporophytes.

Key Words: *Eisenia nipponica*, nitrate uptake kinetics, irradiance, water temperature

要 旨

静岡県では、静岡県焼津市地先から駿河湾深層水を取水しており、この深層水には海藻類の成長の制限要因となる硝酸態窒素が豊富に含まれている。本研究では、サガラメ *Eisenia nipponica* 胞子葉の硝酸態窒素吸収速度に対する硝酸態窒素濃度、光量子束密度および水温の影響を調べた。硝酸態窒素吸収速度はMichaelis–Mentenの式に当てはまり、最大吸収速度 (V_{max}) と半飽和濃度 (K_s) はそれぞれ $0.024 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ と $11.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ であった。硝酸態窒素吸収速度と光量子束密度の関係は指数関数で表され、最大吸収速度は光量子束密度 $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ で $0.033 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ 、暗黒条件では硝酸態窒素を吸収しなかった。また、水温と硝酸態窒素吸収速度との関係は二次関数で表され、 13.5°C で最大吸収速度を示した。駿河湾深層水の硝酸態窒素濃度は年間を通して $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上で、サガラメ幼胞子体の高い栄養要求を満たすと考えられた。

キーワード: サガラメ, *Eisenia nipponica*, 硝酸態窒素吸収速度, 光量子束密度, 水温

1. 緒 言

サガラメ *Eisenia nipponica* は日本の中部から南部沿

岸に分布し、沿岸域で海中林を形成している (川島, 1993)。駿河湾西岸では、約 $8 \times 10^7 \text{ m}^2$ (8,000 ha) のサガラメとカジメ *Ecklonia cava* の海中林が消失する、

¹ 静岡県水産・海洋技術研究所 (〒425-0032 静岡県焼津市鰐ヶ島136-24)

² 静岡県漁業高等学園 (〒425-0033 静岡県焼津市小川3747-2)

³ 一般財団法人マリンオープンイノベーション機構 (〒424-0922 静岡県静岡市清水区日の出町9-25 清水マリビル2階)

いわゆる「磯焼け」が発生している（静岡県，1978；長谷川，1996a；長谷川，1996b；相楽，2000）。現在，この海域にサガラメ群落はなく，天然での再生産は不可能である。このため磯焼け対策として，陸上施設で海洋深層水である駿河湾深層水をかけ流して培養した幼胞子体をコンクリートブロックや移植用樹脂製基盤に付着させて駿河湾西岸に移植してきた経緯がある（二村ら，2007b；山田ら，2020）。

海洋深層水は，窒素及びリン等の栄養塩を豊富に含み，清浄性，低温性が特徴である（高橋・淡路，2006）。静岡県では，静岡県焼津市新焼津港地先の深度397 mから日量2,000 tの駿河湾深層水を取水している（高瀬，2001）。静岡県水産・海洋技術研究所の駿河湾深層水水産利用施設では，駿河湾深層水を藻類及び魚介類の飼育にかけ流し流水条件で使用している（五十嵐，2003；野田ら，2020；山田ら，2020）。この豊富な栄養塩を含む深層水は海藻の生育に適しており，深層海水で培養した場合，表層海水で培養するよりもサガラメ種苗の成長が速いことが報告されている（二村ら，2007a）。海藻類では硝酸態窒素が成長の制限要因となり（Lobban and Harrison, 1994），またコンブ科植物の硝酸態窒素吸収速度は，硝酸態窒素濃度，光量子束密度，水温に影響を受けることが知られている（Harlin and Craigie, 1978；Gerard, 1982；町口ら，1985；Ozaki *et al.*, 2001）。これまでサガラメと硝酸態窒素の関係について成体での窒素吸収量を推定した報告はあるが（蒲原ら，2009），サガラメ幼体の硝酸態窒素吸収特性についての知見はなく，北中米メキシコの太平洋側に生育する同属の*E. arborea*での硝酸態窒素吸収特性について報告されているのみである（Sanchez-Barredo *et al.*, 2011）。そこで本研究では異なる硝酸態窒素濃度，光量子束密度，水温条件下におけるサガラメ幼胞子体の硝酸態窒素吸収特性を調べ，これらの吸収特性と駿河湾深層水の硝酸態窒素濃度との関係について考察した。

2. 方 法

材料に用いたサガラメ *Eisenia nipponica* の幼胞子体は，2000年8月に静岡県御前崎市で採取した親胞

子体から得た個体に由来し（二村ら，2007b），静岡県水産・海洋技術研究所で培養していた配偶体から得た幼胞子体を用いた。硝酸態窒素吸収試験に先立ち2007年に幼胞子体を浮遊状態で培養した。培養条件は光量子束密度 $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ （白色蛍光灯，12時間明期：12時間暗期），水温 20°C ，培地3 L PESI（Tatewaki, 1966）とし，三角フラスコ内で幼胞子体の長さが約5 mmになるまで培養した。培地に用いた原海水は静岡県焼津市新焼津港地先の深度24 mで採取し（以下：表層海水），グラスファイバーフィルター（GA 100，アドバンテック東洋株式会社）で濾過し， 120°C で20分間オートクレーブ滅菌した。また光量子束密度の測定には，ポータブル光量子計（QSL-2100, Biospherical Instruments Inc.）を用いた。8週間後，幼胞子体を深度397 mから採取した駿河湾深層水10 Lを満たしたプラスチック容器に移し， 18°C ，自然光下で培養を行った。培養液と容器は1週間ごとに交換した。約1 cmに成長した胞子葉は，100 Lポリカーボネート容器に移し，397 mから取水した深層水をかけ流した流水条件下において水温 $13 \pm 1^\circ\text{C}$ で培養した。幼胞子体は，海水を通気・攪拌することにより浮遊させた状態で培養した。

2007年8月に，上記の培養により得られた全長約5 cmの幼胞子体の中で，特に肉眼で付着生物がないものを硝酸態窒素吸収試験に用いた。実験に先立ち，胞子葉の表面をペーパータオルで拭き，微小な付着生物や粘液を除去した後，上記の滅菌ろ過海水で洗浄した。硝酸態窒素吸収試験は，100 mL三角フラスコに硝酸ナトリウムもしくはリン酸二水素ナトリウム（関東化学，分析グレード）を添加した上記の表層海水を滅菌ろ過して用いた。試験はインキュベーター内で行い，培地はマグネティックスターラー（長さ30 mm×直径8 mm）を用いて緩やかに攪拌した。硝酸態窒素濃度別の吸収試験では，硝酸態窒素の終濃度をそれぞれ0.9, 5.8, 6.6, 8.3, 13.1, 17.1, 20.9, $24.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ に調整した。なお，その他の条件は，光量子束密度 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ，水温 12.5°C ，リン酸態リン濃度 $5.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ とし，各硝酸態窒素濃度において1-2回の吸収試験を実施した。実験に先

立ち、幼胞子体をそれぞれの試験条件下で2時間の馴致培養した後に、新たな培養液に交換してから2時間の本培養を行った。培地からの硝酸態窒素吸収量を調べるため、試験開始時と終了時に培地中の硝酸態窒素濃度を比色定量した (Parsons *et al.*, 1984)。幼胞子体の表面積は、トレーシングペーパーに幼胞子体の外形を書き込んだ後、デジタルプランメーター (PLANIX 6, タヤマ計測システム株式会社) を用いて測定した。半飽和濃度 (K_s) および最大吸収速度 (V_{max}) はWilkinson (1961) により算出した。

硝酸態窒素の吸収に及ぼす光量子束密度および水温の影響については、687 mから取水した駿河湾深層水 (硝酸態窒素 = 23.8–26.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$, リン酸塩 = 2.7–2.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$) を培養液とした。光量子束密度は白色蛍光灯で35, 130, 240, 300, 400, 450 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に調整し、暗黒条件はフラスコをアルミホイルで完全に覆った状態とした。また、水温の影響を調べるためにインキュベーター内で、水温が10.2, 12.7, 18.3, 20.1°Cになるように調整し、光量子束密度は70 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、培地には687 mから取水した駿河湾深層水を用いた。なお、それ以外の培養条件や分析方法は上記の吸収試験に従った。

サガラメ幼胞子体の培養海水として使用している駿河湾深層水と表層海水の硝酸態窒素の変動を調べるために、2007年の各月2回ずつ、海水をプラスチックボトルに採水した。分析までの間、試料は-30°Cで凍結した。サンプルは定性フィルター (No. 2, アドバンテック東洋株式会社) でろ過した後、前述の比色分析により硝酸態窒素濃度を測定した。

3. 結果及び考察

サガラメ幼胞子体における硝酸態窒素吸収速度と培地中の硝酸態窒素濃度を図1に示す。これらをMichaelis-Mentenの式に当てはめたところ、最大硝酸態窒素吸収速度 (V_{max}) および半飽和濃度 (K_s) はそれぞれ0.024 $\mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ および11.3 $\mu\text{mol L}^{-1}$ であった。コンブ科植物での硝酸態窒素吸収時における半飽和濃度を表1に示す。マコンブ *Saccharina japonica* で1.8–3.4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 、*Laminaria longicruris* で4.1–5.9 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 、ガゴメコンブ *S. crassifolia* で4.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 、オオウキモ *Macrocystis pyrifera* で13.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ 、ナガコンブ *S. longissima* で29.6–33.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ であることが報告されている (Haines and Wheeler, 1978; Harlin and Craigie, 1978; 町口ら, 1985; Ozaki *et al.*, 2001)。また、中米産 *E. arborea* では約30 $\mu\text{mol L}^{-1}$ の高濃度でも吸収速度が飽和しない事が報告されており (Sánchez-Barredo *et al.*, 2011)、本研究でも同様の傾向がみられた (図1)。以上から、サガラメ幼胞子体の硝酸態

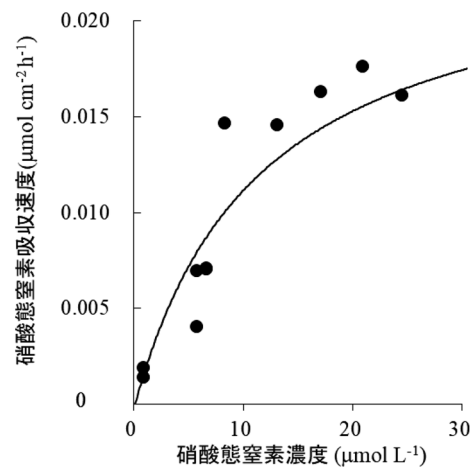


図1 サガラメ幼胞子体における硝酸態窒素吸収速度と培地中の硝酸態窒素濃度との関係
※曲線はMichaelis-Menten式を表す

表1 コンブ科植物の硝酸態窒素吸収時における半飽和定数 (K_s)

種 (学名)	和名	半飽和定数 ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	文献
<i>Eisenia nipponica</i>	サガラメ	11.3	本研究
<i>Saccharina crassifolia</i>	ガゴメコンブ	4.5	Ozaki <i>et al.</i> 2001
<i>Saccharina japonica</i>	マコンブ	1.8–3.4	Ozaki <i>et al.</i> 2001
<i>Saccharina longissima</i>	ナガコンブ	29.6–33.5	町口ら 1985
<i>Laminaria longicruris</i>	—	4.1–5.9	Harlin and Craigie 1978
<i>Macrocystis pyrifera</i>	オオウキモ	13.1	Haines and Wheeler 1978

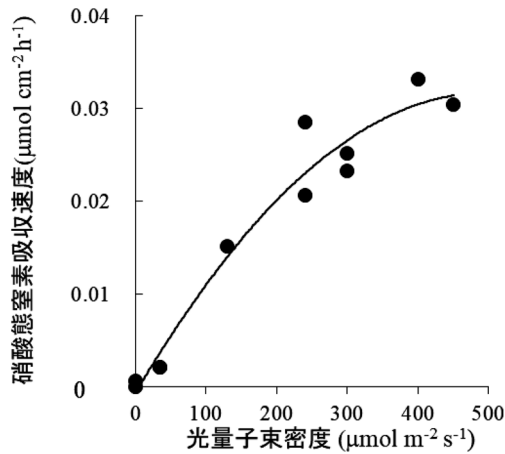


図2 サガラメ幼胞子体における硝酸態窒素吸収速度と光子束密度との関係
※曲線は指数関数での近似式を表す

窒素の K_s はコンブ目植物の中でも比較的高く、サガラメは高い硝酸態窒素吸収能を有していた。

サガラメ幼胞子体における硝酸態窒素吸収速度に及ぼす光子束密度の影響について図2に示した。これらの関係は指数関数で表され、 $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ において最大吸収量は $0.033 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ であり、暗黒条件では硝酸態窒素を吸収しなかった。コンブ目植物では、高光子束密度下で高い硝酸態窒素吸収速度を示すものの、暗条件下では吸収速度が低いか、またはほとんど吸収しないことが報告されている (Harlin and Craigie, 1978; Gerard, 1982; Ozaki *et al.*, 2001)。光合成は、硝酸態窒素吸収を含む能動輸送のためのエネルギーであるATPを供給し、硝酸イオンをアミノ酸やタンパク質等の窒素化合物に合成する際に必要な炭素骨格を生成している (Lobban and Harrison, 1994)。このため、暗黒条件下では、硝酸態窒素吸収及び合成経路の代謝が減少しているため、硝酸態窒素をほとんど吸収していないと推察された。なお、中米産*E. arborea*での最大硝酸態窒素吸収速度は、硝酸態窒素濃度 $31.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ 、光子束密度 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 条件下で約 $1.0 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ と報告とされており (Sanchez-Barredo *et al.*, 2011)、本研究でこれに近い条件である硝酸態窒素濃度 23.8 – $24.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ 、光子束密度 $300 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 下での硝酸態窒素吸収速度を重量あたりに換算すると 0.9 – $1.3 \mu\text{mol g}^{-1} \text{h}^{-1}$ となり、*E. arborea*と同等の吸収速度を示した。

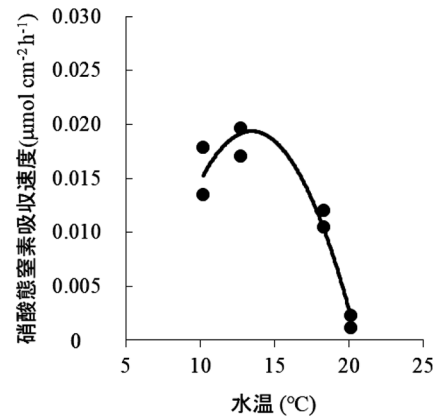


図3 サガラメ幼胞子体における硝酸態窒素吸収速度と水温との関係
※曲線は二次関数での近似式を表す

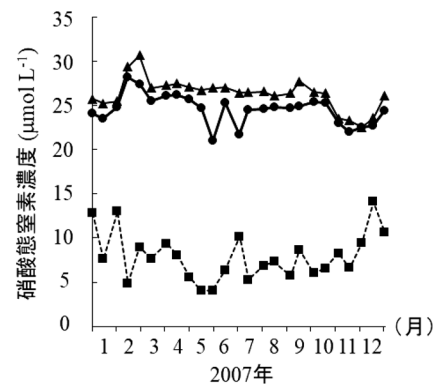


図4 2007年における駿河湾深層水 (397 m: 太線, 687 m 細線) 及び表層海水 (破線) の硝酸態窒素濃度の推移

硝酸態窒素吸収速度と水温との関係は二次関数で表され (図3)、吸収速度は水温 13.5°C で最も高い吸収速度 $0.02 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ を示した。これは実測値でも同様の傾向を示し、 18.3°C では平均 $0.011 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ 、 20.1°C では平均 $0.003 \mu\text{mol cm}^{-2} \text{h}^{-1}$ に減少した。本試験と同様の約5 cmのサガラメ幼胞子体の成長に及ぼす水温の影響について、深度397 m取水を用いた試験では 12°C 、 17°C で 21°C での培養に比べて高い成長を示したことが報告されている (二村ら, 2007a)。また、かつてはサガラメが生育していた静岡県の大瀬南海域では、幼胞子体は春季に肉眼で見える大きさとなり (長谷川, 1996a)、この時期の水温は 12 – 18°C であるとされている (吉田ら, 2009)。このように室内試験及び天然海域での伸長に適した水温帯は、硝酸態窒素吸収に適した水温と一致していた。

駿河湾深層水及び表層海水中の硝酸態窒素濃度を図4に示した。397 mおよび687 mの深層水の平均硝

酸態窒素濃度はそれぞれ $24.2 \mu\text{mol L}^{-1}$ および $26.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ であり、年間を通して $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上であった。一方、表層海水の硝酸態窒素濃度は平均 $7.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ であり、深層水の硝酸態窒素濃度に比べて約 $1/4$ の濃度であった。サガラメの幼胞子体は、深層水で培養した場合、表層海水での培養した個体よりも成長が速いことが報告されている(二村ら, 2007a)。これは、前述のようにサガラメ幼胞子体が高い硝酸態窒素吸収能を有しており、深層水のように高い硝酸態窒素濃度を含む海水中は成長に見合った量を吸収できるためと推察された。以上から、サガラメ幼胞子体はコンブ科植物の中でも比較的高い硝酸態窒素吸収能を有することが明らかとなった。この硝酸態窒素吸収速度は光量子束密度の増加に伴い増加し、また吸収速度が最大となる水温は 13.5°C であった。駿河湾深層水の硝酸態窒素濃度は年間を通して $20 \mu\text{mol L}^{-1}$ 以上であり、サガラメ幼胞子体の高い栄養要求を満たすと考えられた。

以上から、サガラメ幼胞子体の硝酸態窒素吸収特性が明らかになり、また駿河湾深層水がサガラメ幼胞子体の生育に必要な硝酸態窒素吸収濃度を満たしていた。静岡県水産・海洋技術研究所では、駿河湾深層水水産利用施設において駿河湾深層水をかけ流し流水でサガラメ種苗の生産が可能である(二村ら, 2007b; 山田ら, 2020)。現在、駿河湾西岸の海域にサガラメ群落はなく、今後も駿河湾深層水を用いて幼胞子体を培養し、天然海域に移植することで藻場の回復に寄与することが望まれる。

謝 辞

本研究を行うにあたり、御助言および実験の補助を頂いた静岡県水産・海洋技術研究所深層水利用施設の職員の方々に厚くお礼申し上げます。

参考文献

Gerard, V. A. (1982) In situ rates of nitrate uptake by giant kelp, *Macrocystis pyrifera* (L.) C. Agardh: Tissue differences, environmental effects, and predictions of nitrogen-limited growth. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 62, 211–224.
Haines, K. C. and P. A. Wheeler (1978) Ammonium and ni-

trate uptakes by the marine macrophytes *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta). *J. Phycol.*, 14, 319–324.

- Harlin, M. M. and J. S. Craigie (1978) Nitrate uptake by *Laminaria longicruris* (Phaeophyceae). *J. Phycol.*, 14, 464–467.
長谷川雅俊 (1996a) サガラメ異変. 伊豆分場だより, 264, 2–8.
長谷川雅俊 (1996b) 御前崎の潜水漁業と磯焼け. 伊豆分場だより, 265, 2–6.
五十嵐保正 (2003) 静岡県における海洋深層水研究施設の完成. 海洋深層水利用研究会ニュース, 7(2), 10–11.
蒲原 聡・服部克也・原田靖子・和久光靖・芝 修一・倉島 彰・前川行幸・鈴木輝明 (2009) 伊勢湾東部沿岸サガラメ群落における年間純生産量と炭素・窒素の年間吸収量. 日本水産学会誌, 75, 1027–1035.
川嶋昭二 (1993) サガラメ. 日本産コンブ類図鑑(川嶋昭二編), 北日本海洋センター, 札幌, pp. 121–123.
Lobban, C. S. and P. J. Harrison (1994) Nutrients. In “Seaweed Ecology and Physiology.” (ed. By C. S. Lobban and P. J. Harrison), Cambridge University Press, Cambridge, pp. 163–209.
町口裕二・三本菅善昭・岡田行親 (1985) 再生期におけるナガコンブの無機態窒素吸収と生長について. 北海道区水産研究所研究報告, 50, 45–61.
二村和視・岡本一利・高瀬 進 (2007a) 駿河湾深層水・光量子束密度および水温がサガラメ *Eisenia arborea* 幼体の成長に及ぼす影響. 水産増殖, 55, 199–204.
二村和視・高辻裕史・増田 傑・畠本淳司 (2007b) 静岡県榛南海域へ移植したカジメ・サガラメ種苗の生長・成熟とアイゴによる食害. 水産増殖, 55, 541–546.
野田浩之・今井基文・山田博一 (2020) キンメダイの種苗生産技術の開発. 2019年度静岡県水産技術研究所事業報告, 90–91.
Ozaki, A., H. Mizuta and H. Yamamoto (2001) Physiological differences between the nutrient uptakes of *Kjellmaniella crassifolia* and *Laminaria japonica* (Phaeophyceae). *Fish. Sci.*, 67, 415–419.
Parsons, T. R., Y. Maita and C. M. Lalli (1984) Nutrients. In “A manual of Chemical and Biological Methods for Seawater Analysis.” (ed. By T. R. Parsons, Y. Maita and C. M. Lalli), Pergamon Press, Oxford. pp. 3–33.
相楽充紀 (2000) 磯焼け海域における海中林復元に

- むけて—配偶体を利用した藻場造成法の検討—
伊豆分場だより, 282, 2-7.
- Sánchez-Barredo, M., L. B. Ladah and J. A. Zertuche-González (2011) Nitrate uptake and duration of internal nitrogen reserves in the kelp *Eisenia arborea*. Bot. Mar., 54, 441-446.
- 静岡県 (1978) 干潟, 藻場, サンゴ礁分布調査報告書 [16]. 第2回自然環境保全基礎調査, 環境庁, 東京, pp. 1-25.
- 高橋正征・淡路敏之 (2006) 海洋深層水とは. 海洋深層水利用学—基礎から応用・実践まで—(藤田大介・高橋正征編著), コスモトゥーワン, 東京, pp. 1-27.
- 高瀬 進 (2001) 駿河湾深層水の取水及び試験給水を開始. 海洋深層水利用研究会ニュース, 5, 9-10.
- Tatewaki, M. (1966) Formation of a crustacean sporophyte with unilocular sporangia in *Scytosiphon lomentaria*. Phycologia, 6, 62-66.
- Wilkinson, G. N. (1961) Statistical estimations in enzyme kinetics. Biochem. J., 80, 824-832.
- 山田博一・社家間太郎・権田泰之・南 正治・菅谷剛彦 (2020) 複合移植によるサガラメ藻場回復研究. 2019年度静岡県水産技術研究所事業報告, 84.
- 吉田 彰・小林憲一・平口志織 (2009) 定地観測調査. 平成19年度静岡県水産試験場事業報告, 140-141.
(2022年11月30日受付; 2023年2月13日受理)