

## 中海の優占藻類種間の相互作用

持田 和男<sup>\*1</sup>・中村 利家<sup>\*1</sup>・中島 修<sup>\*1</sup>・近藤 邦男<sup>\*2</sup>

### The Interactions between the Dominant Species of Phytoplankton in Lake Nakanoumi Kazuo MOCHIDA, Toshiie NAKAMURA, Osamu NAKASHIMA and Kunio KONDO

The interactions between microalgae were examined using the dominant species of phytoplankton isolated from the brackish lake Nakanoumi as one of the biological factors affecting the transition of algal flora in the hydrosphere. The interactions between 2 species among 7 species of the algae were classified to 5 types called amensalism, disoperation, exploitation, commensalism, and neutralism. Especially, it was strongly suggested that the amensalism or disoperation caused by *Cymbella* sp. was an allelopathic phenomenon which was attributable to the growth inhibitors secreted from the cells.

#### 緒 言

水圏における微細藻類の動態は、化学的、物理的および生物的諸因子の錯綜する複雑な生育環境を反映したものである。しかし環境のもつ動態関与因子のみならず、藻類自体の相互の影響についても不明な点が少なくない。最近注目された他感作用 (allelopathy) と呼ばれる化学物質 (allelochemicals) を介する生物間相互作用<sup>1,2)</sup>はその一つであり、微細藻類/細菌間<sup>3,4)</sup>だけでなく微細藻類/微細藻類間<sup>5-8)</sup>においても藻類の増殖制御物質が分離されてきている。藻類の発生制御的役割を果たしている前者に対して、後者は水域における藻類相遷移の制御的役割を果たしていることが考えられる。

本研究では、干拓・淡水化問題で揺れた中海の湖水から分離された優占藻類種間にどのような相互作用の様式が観察されるかについて実験室的検討を行い、微細藻類間相互作用現象の動力学解析・評価および藻類間相互作用物質の分離に関する研究の基礎資料にすることとした。

#### 材料および方法

##### (1) 藻 類

供試藻類としては、第1表に記載した珪藻6種および緑藻1種を用いた。これらは、いずれも中海湖水から純粋分離した後、当研究室で無菌的に継代培養していたものである。

##### (2) 培養法

供試培地は、海産性珪藻用の須藤培地の NaCl 量を汽水濃度 (15,000ppm) に修正したもので、その組成を第2表に示した。藻類の単独培養には、この培地 9 ml を L 字型試験管 (φ18mm) に分取してオートクレイブで滅菌処理 (120℃, 20min) したものを、対数増殖期の藻類懸濁液 1 ml を無菌的に接種した後、4,000 lux の常時照明 (三菱ルミグリーン, F 1-30) 下、20℃で往復振とう培養 (30 strokes/min) した。また2種の藻類の混合培養には、同培地 8 ml に対数増殖期の藻類懸濁液各 1 ml を接種し、

第1表 供試藻類

藻類	種属
珪藻	<i>Asterionella japonica</i>
	<i>Cyclotella nana</i>
	<i>Nitzschia closterium</i>
	<i>Skeletonema costatum</i>
	<i>Cymbella</i> sp.
	<i>Navicula</i> sp.
緑藻	<i>Planctonema lauterbornii</i>

\*1 生物資源化学講座  
\*2 島根大学環境安全施設

第2表 培地の組成

成分	含量
NaCl	15 g
MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O	8 g
KCl	0.7 g
CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0.37 g
NaNO <sub>3</sub>	0.1 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 12H <sub>2</sub> O	0.0125 g
NaHCO <sub>3</sub>	0.168 g
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub>	0.008 g
Vitamin B <sub>12</sub>	0.02 μg
Reformed P-1*	1 mL
H <sub>2</sub> O	1000 mL

\* Reformed P-1 solution

EDTA	3 mL
Fe(Cl <sub>2</sub> )	0.08 g
Mn(Cl <sub>2</sub> )	0.12 g
Zn(Cl <sub>2</sub> )	0.015 g
CO(Cl <sub>2</sub> )	0.003 g
Cu(SO <sub>4</sub> )	0.0012 g
B(H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	0.6 g
Mo(Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> )	0.05 g
H <sub>2</sub> O	1000 mL

同じ条件下で培養した。

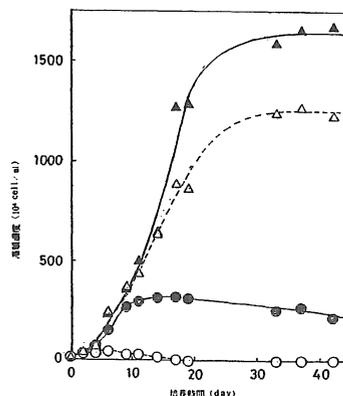
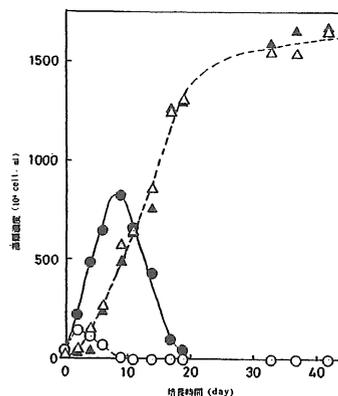
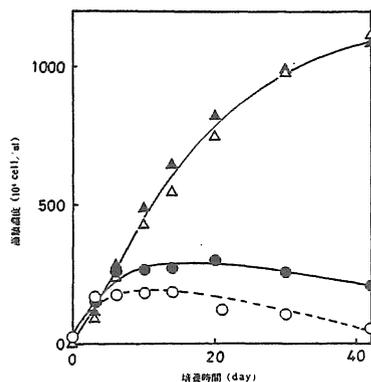
## (3) 増殖量の測定法

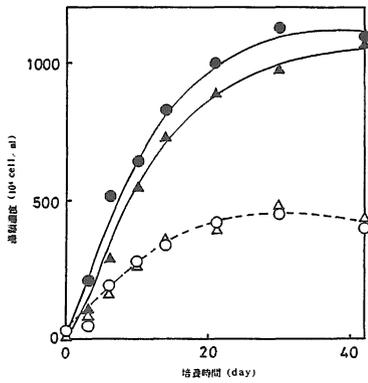
Thoma の血球計算盤 (hemacytometer)を用いた顕微鏡下での細胞数計測法により、培養液1mlあたりの藻類細胞数を求めた。測定は概ね2~5日間隔で行い、藻類を接種した日から40~50日後までの増殖量を追跡した。測定のためのサンプリング量は、1回につき0.1mlとした。

## 結 果

珪藻6種および緑藻1種の計7種の藻類間の全ての組み合わせについて、2種藻類の混合培養実験を行った。その結果、2種藻類間に比較的明確な相互作用が認められた組み合わせの各藻類の増殖曲線を第1図~第12図に示した。したがって、図示しなかった他の組み合わせについては、相互作用が殆ど認められなかったことを意味している。

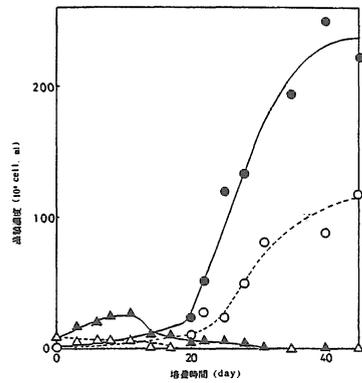
これらの結果は第3表のように要約される。最も多くの藻類種に対して増殖抑制作用を示したのは *Cymbella* sp. で、次いで *Nitzschia closterium*, *Planctonema laterbornii*, *Navicula* sp., *Cyclotella nana* の順であった。特に *Cymbella* sp. の *Cyclotella nana* および *Skeletonema costatum* に対す

第1図 *Cyclotella nana* と *Cymbella* sp. との間の相互作用  
*Cyclotella nana*: ●(単独), ○(混合)  
*Cymbella* sp.: ▲(単独), △(混合)第2図 *Skeletonema closterium* と *Cymbella* sp. との間の相互作用  
*Skeletonema closterium*: ●(単独), ○(混合)  
*Cymbella* sp.: ▲(単独), △(混合)第3図 *Navicula* sp. と *Cymbella* sp. との間の相互作用  
*Navicula* sp.: ●(単独), ○(混合)  
*Cymbella* sp.: ▲(単独), △(混合)



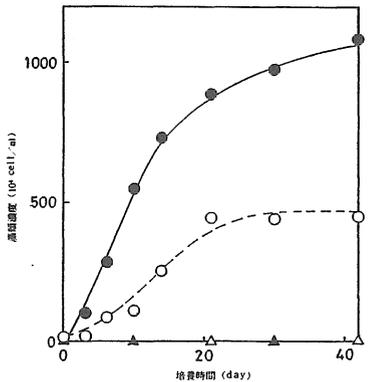
第4図 *Planctonema lauterbornii* と *Cymbella* sp. との間の相互作用

*Planctonema lauterbornii*: ●(単独), ○(混合)  
*Cymbella* sp.: ▲(単独), △(混合)



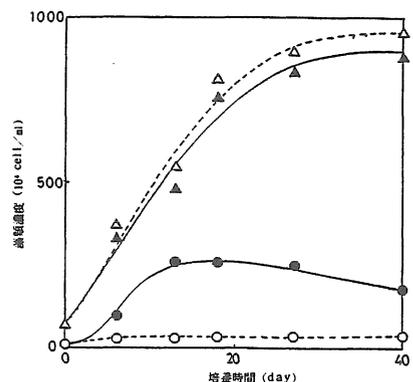
第7図 *Cyclotella nana* と *Nitzschia closterium* との間の相互作用

*Cyclotella nana*: ●(単独), ○(混合)  
*Nitzschia closterium*: ▲(単独), △(混合)



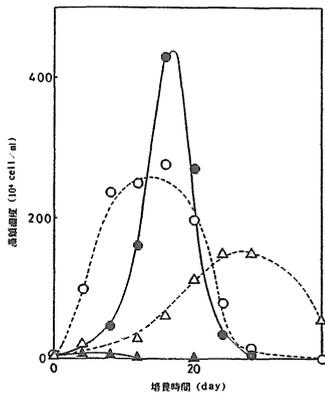
第5図 *Cymbella* sp. と *Nitzschia closterium* との間の相互作用

*Cymbella* sp.: ●(単独), ○(混合)  
*Nitzschia closterium*: ▲(単独), △(混合)



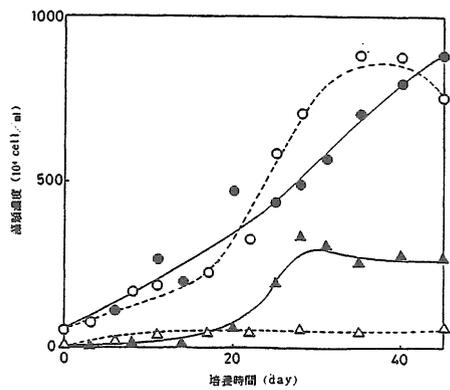
第8図 *Cyclotella nana* と *Planctonema lauterbornii* との間の相互作用

*Cyclotella nana*: ●(単独), ○(混合)  
*Planctonema lauterbornii*: ▲(単独), △(混合)



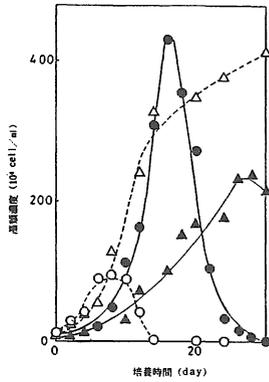
第6図 *Skeletonema costatum* と *Nitzschia closterium* との間の相互作用

*Skeletonema costatum*: ●(単独), ○(混合)  
*Nitzschia closterium*: ▲(単独), △(混合)



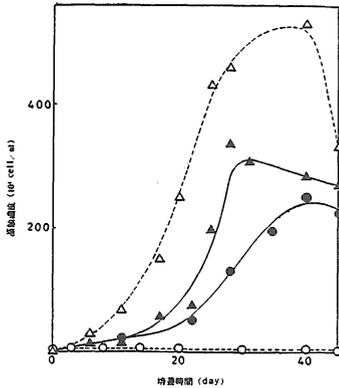
第9図 *Planctonema lauterbornii* と *Navicula* sp. との間の相互作用

*Planctonema lauterbornii*: ●(単独), ○(混合)  
*Navicula* sp.: ▲(単独), △(混合)



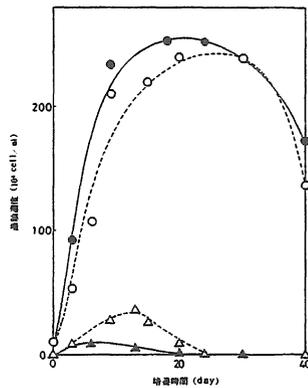
第10図 *Skeletonema costatum* と *Navicula* sp. との間の相互作用

*Skeletonema costatum*: ●(単独), ○(混合)  
*Navicula* sp.: ▲(単独), △(混合)



第11図 *Cyclotella nana* と *Navicula* sp. との間の相互作用

*Cyclotella nana*: ●(単独), ○(混合)  
*Navicula* sp.: ▲(単独), △(混合)



第12図 *Cyclotella nana* と *Asterionella japonica* との間の相互作用

*Cyclotella nana*: ●(単独), ○(混合)  
*Asterionella japonica*: ▲(単独), △(混合)

第3表 他種藻類の増殖に及ぼす影響

藻種	被影響藻種						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>Asterionella</i> (1)	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cyclotella</i> (2)	○	-	-	-	●	○	-
<i>Nitzschia</i> (3)	-	●	-	●	●	-	-
<i>Skeletonema</i> (4)	-	-	○	-	-	○	-
<i>Cymbella</i> (5)	-	●	-	●	-	●	●
<i>Navicula</i> (6)	-	●	-	●	-	-	-
<i>Planctonema</i> (7)	-	●	-	-	●	●	-

○: 増殖促進, ●: 増殖抑制, -: 影響無し

る増殖抑制作用は顕著であった(第1図および第2図). また *Nitzschia closterium* は, それ自身の増殖量は著しく低いにも拘わらず, 他種藻類に対して強い増殖抑制作用を示した(第5図~第7図). なお, *Skeletonema costatum* および *Asterionella japonica* には, 他種藻類に対する増殖抑制作用は認められなかった. 一方, 他種藻類に対して増殖促進作用を示したのは, *Skeletonema costatum* および *Cyclotella nana* で, *Navicula* sp. は両種から増殖促進作用を受けた(第10図および第11図).

### 考 察

2種藻類の混合培養実験から得られた藻類間の相互関係(第3表)は, 次の5つの型に分類される.

- (1) 片害作用: 一方の種は抑制作用を受けるが, 他方の種は影響を受けない関係にあり, 6つの藻類組み合わせ間で観察された.
- (2) 相害作用: 両種共に抑制作用を受ける関係にあり, 2つの藻類組み合わせ間で観察された.
- (3) 拮抗作用: 一方の種は抑制作用を受けるが, 他方の種は促進作用を受ける関係にあり, 3つの藻類組み合わせ間で観察された.
- (4) 片利作用: 一方の種は促進作用を受けるが, 他方の種は影響を受けない関係にあり, 1つの藻類組み合わせ間のみで観察された.
- (5) 中立作用: 両種共に影響を受けない関係にあり, 9つの藻類組み合わせ間で観察された.

微細藻類間に観察されるこのような相互関係の要因として次の3つが挙げられよう.

- (1) 栄養塩類の獲得競争
- (2) 増殖空間の獲得競争
- (3) 増殖抑制物質あるいは増殖促進物質の分泌による影響

本実験で認められた拮抗作用および片利作用の中での増殖促進の現象は, 閉鎖培養系であることから, 要因(3)

に基づくものであると考えられる。ちなみに、*Skeletonema costatum*<sup>9)</sup>や *Cyclotella nama*<sup>10)</sup>は、代謝産物として本実験に用いた培地中には含まれていないチアミンやピオチン等のビタミン類を藻体外に排出すると報告されている。

一方、片害作用、相害作用および搾取作用における増殖抑制の現象については、三要因の全てが想定でき、多くの場合はそれらが複合的に関与しあっていると思われる。もし要因(1)のみに基づく現象であるとするれば、抑制作用を受ける藻種は栄養塩類の吸収能力が相手藻種よりも低位にあることになり、また要因(2)のみに基づく現象であるとするれば、抑制作用を受ける藻種は主としてその増殖速度が相手藻種よりも小さいことになる。しかし、*Cymbella* sp.との混合培養における *Cyclotella nama*(第1

図)あるいは *Skeletonema costatum*(第2図)の増殖抑制については、単独培養における比増殖速度定数<sup>11)</sup>が *Cymbella* sp.のそれ(0.481day<sup>-1</sup>)より大きい(それぞれ1.03day<sup>-1</sup>および0.882day<sup>-1</sup>)にも拘わらず、栄養塩類が十分に含まれている培養初期から著しい抑制作用を受けていることから、主として要因(3)に基づく現象であること、すなわち *Cymbella* sp.が増殖抑制物質を分泌している可能性を示唆している。したがって、増殖抑制物質の検索源としては *Cymbella* sp.が適当であり、その他では自身の増殖量に比べて他種藻類に対する増殖抑制作用の著しい *Nitzschia closterium* に興味もたれた。

本報告は文部省科学研究費(課題番号No.62540498)による研究成果の一部であり、記して謝意を表する。

### 参 考 文 献

1. E.L.RICE : Allelopathy, 2nd ed., Academic Press Inc., London, 1984, pp. 422.
2. A.C.THOMPSON Ed. : The Chemistry of Allelopathy, American Chemical Society, Washington, 1985, pp. 470.
3. 石尾真弥 : 昭和58年度赤潮対策技術開発試験報告. 1-内湾海域赤潮生物挙動試験 (11), 水産庁, 1984, pp. 38.
4. S.HAYASHIDA, S.TANAKA, Y.TERAMOTO, N.NANRI, S.YOSHINO and K.FURUKAWA : Agric. Biol. Chem., 55 : 787, 1991.
5. F.B.SIMPSON and J.B.NEILANDS : J. Phycol., 12 : 44, 1976.
6. L.F.MCCORY, JR., D.L.ENG-WILMOT and D.F.MARTIN : J. Agric. Chem., 27 : 69, 1979.
7. J.J.PIGNATELLO, J.PORWOLL, R.E.CARLSON, A.XAVIER, F.K.GLEASON and J.M.WOOD : J. Org. Chem., 48 : 4035, 1983.
8. H.KAKISAWA, F.ASARI, T.KUSUMI, T.TOMA, T.SAKURAI, T.OOHUSA, Y.HARA and M.CHIHARA : Phytochem., 27 : 731, 1988.
9. A.F.CARLUCCI and P.M.BOWES : J. Phycol., 6 : 351, 1970.
10. 金沢昭夫, 下麦透, 柏田研一 : 日水年会講演要旨集, 97, 1968.
11. 持田和男, 中村利家 : 平成元年度科学研究費補助金(一般研究C)研究成果報告書「微細藻類間アレロパシー現象の動力学的解析と環境科学的利用」, 33, 1990.