

DIP 濃度がワカメ幼体の生長に及ぼす影響

後川 龍男¹・中本 崇²
 (¹研究部・²水産振興課)

福岡湾では近年ワカメ *Undaria pinnatifida* の不作が頻発しており、その原因として海水中のリン不足が強く疑われている。本研究ではワカメ養殖に最低限必要な DIP 濃度を推定するため、ワカメ幼体および幼葉を用いた培養試験を行った。その結果、DIP を除去した海水で培養した場合と比較して、有意に生長差が現れる DIP 濃度は 0.05~0.08 μ M であることが判明した。また DIP 濃度が低い状態が継続すると斑点性先腐れ症が発症しやすくなる可能性が示唆された。この結果や他県での事例を踏まえると、福岡湾のワカメ養殖漁場では DIP 濃度 0.1 μ M を基準値として養殖管理することが望ましいと判断された。

キーワード：DIP, ワカメ, 福岡湾, リン不足, 斑点性先腐れ症

福岡県沿岸では数少ない冬場の漁業としてワカメ養殖が営まれている。特に福岡湾の湾口部に位置する志賀島地先及び弘地先は古くからの養殖ワカメ生産地であり、それぞれ「金印わかめ」、「弘わかめ」として産地ブランドが確立している。ところが近年福岡湾では、幼葉の消失や収穫期直前の大型葉体に発生する急激な先枯れによるワカメの不作が頻発しており、原因の究明が求められている。ワカメ養殖に必要な DIP 濃度の基準値としては、特に色落ちとの関連において大阪府や徳島県で 0.1 μ M^{1, 2)}とされており、福岡県では経験的に DIP 濃度 0.2 μ M を基準値として情報提供してきた。しかし近年のワカメ不作年には海水中の DIP 濃度が 0.2 μ M をはるかに下回り、検出限界値 0.02 μ M 以下となっていることが判明しており、リン不足がワカメ養殖の不作要因となっている可能性が強く示唆されている。^{3, 4)} その一方でリンが過剰であれば赤潮の発生など有害な影響を及ぼす可能性もあることから、福岡湾における適正なリン濃度を議論する一助とするた

め、ワカメの生長に影響を及ぼすリン濃度を把握するための試験を行った。

方 法

培養試験は計 4 回実施した。試験回次別の設定条件を表 1 に示した。1 R の培養には人工海水（マルカン製パーフェクトマリン）を用いた。PESI 培地⁵⁾ からグリセロリン酸ナトリウムを除き、リン酸水素二ナトリウム（無水）を添加して DIP 濃度を調整した PESI 改変培地を人工海水に添加し、6 穴プレートの各ウェルに 10ml ずつ入れた。ここにフリー配偶体（山口県産と志賀島天然産の交雑）から培養したワカメ幼体株（葉体 10~20 枚/株、葉長 1.2 \pm 0.2mm）を 1 ウェル 1 株、各試験区 6 株収容して培養した。培養条件は水温 20 $^{\circ}$ C、約 4000lx、明期：暗期 = 12h：12h、無通気静置培養とした。2~3 日に 1 回 DIP 濃度を測定するため培地を採取した後、培地を入れ替えた。採取した培地は 0.45 μ m

表 1 試験回次別の設定条件

試験回次	開始時葉長	水温	通気	初期DIP設定濃度	使用海水	基本培地	培地全交換	栄養塩の添加
1R	1.2 \pm 0.2mm	20 $^{\circ}$ C	なし	0, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0 μ M	人工海水 (パーフェクトマリン)	DIN: PESI培地の通常濃度 DIP: 各設定濃度	3~4日に1回	—
2R	17~18mm	15 $^{\circ}$ C	微通気	0, 0.1, 0.2, 1.0 μ M	調整無リン海水	DIN: PESI培地の1/10濃度 DIP: 各設定濃度	3~4日に1回	—
3R	22~23mm	15 $^{\circ}$ C	微通気	0, 0.1, 0.2, 1.0 μ M	調整無リン海水	DIN: PESI培地の1/10濃度 DIP: 各設定濃度	4日に1回	2日に1回 設定濃度のPESI改変培地を添加
4R	20~21mm	15 $^{\circ}$ C	なし	0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 μ M	調整無リン海水	DIN: PESI培地の1/30濃度 DIP: なし (別途添加)	7日に1回	2日に1回 設定濃度のDIPを添加

のフィルターでろ過後-30℃で凍結し、後日オートアナライザー（ブランルーベ社製 TRAACS800）で DIP 濃度を測定した。15日後に各ウェルのワカメ葉長を長い順に6枚ずつ測定し、試験区間の葉長を比較した（以下、幼体試験）。

2 R 以降は、事前にワカメ成葉（葉長20~30cm）を予備培養して DIP を除去した海水を用いた。DIN 濃度を通常の1/10から1/30に調整し、かつグリセロリン酸ナトリウムを除いた PESI 改変培地を作成してこの海水に加え、さらに各設定 DIP 濃度になるようリン酸水素二ナトリウム（無水）を添加して試験に用いた。培養条件は水温15℃、約4000lx、明期：暗期=12h：12hとした。500ml ポリ三角フラスコに培地を400~500ml 入れ、フリー配偶体（北九州市藍島産）から生産した幼葉（葉長17~23mm）を各試験区7枚ずつ収容し、葉体同士の擦れ合いによる損傷を防ぐためワカメ幼葉がほとんど動かない程度の微通気もしくは無通気で2週間培養した。4 R は、細菌の発生を抑えるためストレプトマイシン硫酸塩を1.0mg/ml の濃度で添加した。DIP 濃度測定のため培地交換や栄養塩添加の前後で培地を採取し、0.45μm のフィルターでろ過後に-30℃で凍結保存し、後日オートアナライザーで DIP 濃度を測

定した。試験開始時および中間時、終了時にワカメの葉長を測定して試験区間の葉長を比較した（以下、幼葉試験）。

なお各試験区の設定 DIP 濃度は当初作成した培地中の DIP 濃度であり、試験開始後は葉体によって吸収されるため培地の交換直前の DIP 濃度は設定濃度よりも低くなる。このため、栄養塩添加あるいは培地交換の直前と直後の DIP 濃度の実測値の平均値を各試験区の期間中の平均 DIP 濃度とした。以下、各試験区の DIP 濃度は表1に示した設定値ではなく試験期間中の平均 DIP 濃度で示した。

また試験区間の生長差の解析にあたっては、次式

$$Gn = Ln - Lo$$

$$Ln = Lo \{ 1 + (Gr / 100) \}^n$$

ただし、 n ：経過日数（日）

Ln ： n 日後の葉長（mm）

Lo ：試験開始時の葉長（mm）

Gn ： n 日後の生長量（mm）

Gr ：日間生長率（%）

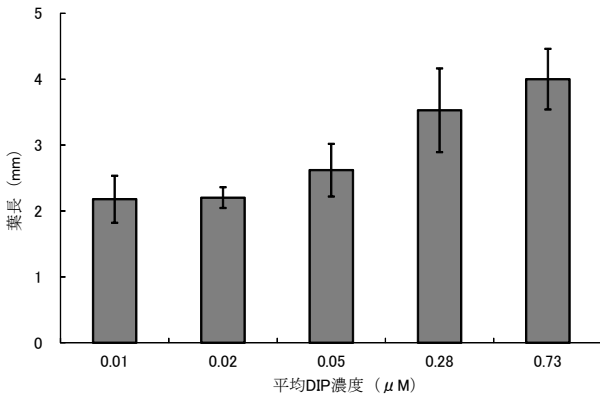


図1 1R終了時（14日経過）の葉長

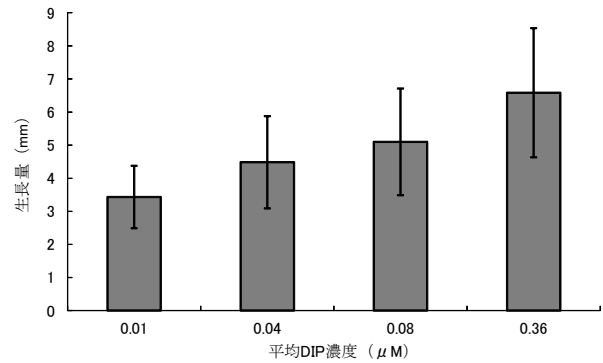


図2 2R中間時（7日経過）の生長量

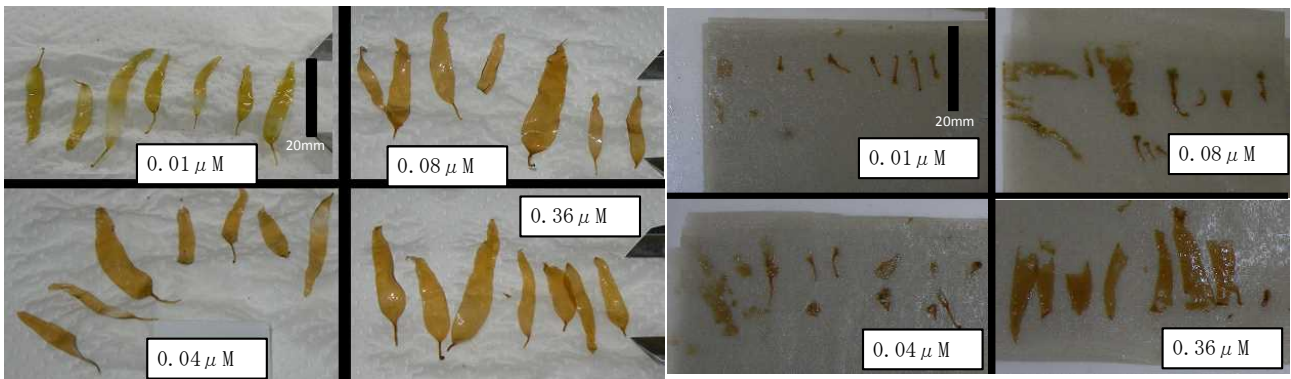


図3 2R中間時（7日経過：左）および終了時（14日経過：右）の葉体

より、試験区毎の生長量 G_n を求めて試験区間の生長量を比較するとともに、各試験区の日間生長率 Gr を算出した。

結 果

1 R 終了時の葉長を図 1 に示した。葉長は平均 DIP 濃度が高い試験区ほど大きくなった。平均 DIP 濃度が 0.01 と $0.02\mu\text{M}$ の間、 0.28 と $0.73\mu\text{M}$ の間を除く全ての組み合わせで葉長に有意な差 ($P < 0.01$) が見られた (ANOVA, *t*-test, Bonferroni 法, 以下同じ)。

2 R の 7 日経過後の中間測定時における葉長は、平均 DIP 濃度 0.01 , 0.04 , 0.08 , $0.36\mu\text{M}$ 区においてそれぞれ 21.7 ± 5.0 , 21.9 ± 4.4 , 22.8 ± 4.8 , 23.9 ± 5.3 (mm) となり、平均 DIP 濃度が高いほど大きくなった。7 日経過後の DIP 濃度別生長量を図 2 に示した。試験開始時からの生長量はそれぞれ、 3.4 ± 0.9 , 4.5 ± 1.4 , 5.1 ± 1.6 , 6.6 ± 2.0 (mm) となった。平均 DIP 濃度が 0.01 と $0.04\mu\text{M}$ 区の間、 0.04 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間および 0.08 と $0.36\mu\text{M}$ 区の間では生長量に有意な差がなかったものの、 0.01 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間、 0.01 と $0.36\mu\text{M}$ 区の間および 0.04 と $0.36\mu\text{M}$ 区の間で生長量に有意な差 ($P < 0.05$) が見られた。2 R では中間時には肉眼的な穴あき症状が見られなかったものの、試験開始から 10 日程度経過後に 0.01 と $0.04\mu\text{M}$ 区で藻体に穴あき症状が見られはじめ、14 日経過した試験終了時にはほとんどの葉体が溶解し測定不能となった (図 3)。

3 R の 8 日経過後の中間測定時における葉長は、平均 DIP 濃度 0 , 0.04 , 0.08 , $0.74\mu\text{M}$ 区においてそれぞれ 30.0 ± 5.5 , 29.7 ± 7.6 , 31.6 ± 5.5 , 35.5 ± 5.2 (mm) となり、平均 DIP 濃度が高いほど大きくなった。8 日経過後における DIP 濃度別生長量を図 4 に示した。試

験開始時からの生長量はそれぞれ 7.6 ± 1.1 , 7.1 ± 3.2 , 8.9 ± 1.4 , 13.2 ± 1.5 (mm) となった。平均 DIP 濃度が 0 と $0.04\mu\text{M}$ 区の間、 0.04 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間では生長量に有意な差がなかったものの、 0 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間 ($P < 0.05$)、 $0.74\mu\text{M}$ 区とそれ以下の各試験区との間 ($P < 0.01$) では生長量に有意な差が見られた。3 R では中間時には肉眼的な穴あき症状が見られなかったものの、試験開始から 10 日程度経過後に 0 および $0.04\mu\text{M}$ 区で藻体に穴あき症状が見られはじめ、14 日経過後の試験終了時にはほとんどの葉体が溶解し測定不能となった (図 5)。

4 R の 6 日経過後の中間測定時における葉長は、平均 DIP 濃度 0.08 , 0.28 , 0.51 , 0.76 , 1.07 , $1.21\mu\text{M}$ 区においてそれぞれ 26.7 ± 2.9 , 27.4 ± 3.1 , 28.5 ± 2.9 , 28.3 ± 2.6 , 29.4 ± 3.5 , 29.1 ± 3.9 (mm)、14 日経過後の試験終了時の葉長は各試験区ごとに、 33.2 ± 3.8 , 36.5 ± 4.3 , 38.1 ± 4.5 , 41.8 ± 3.1 , 39.5 ± 3.7 , 44.1 ± 6.4 (mm) となった。平均 DIP 濃度が高いほど大きく生長する傾向を示したものの、試験終了時の $1.07\mu\text{M}$ 区は $0.76\mu\text{M}$ 区より生長が劣っていた。試験終了時に

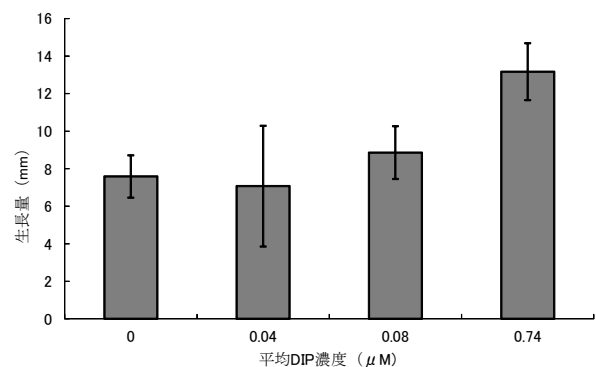


図 4 3R 中間時 (8 日経過) の生長量

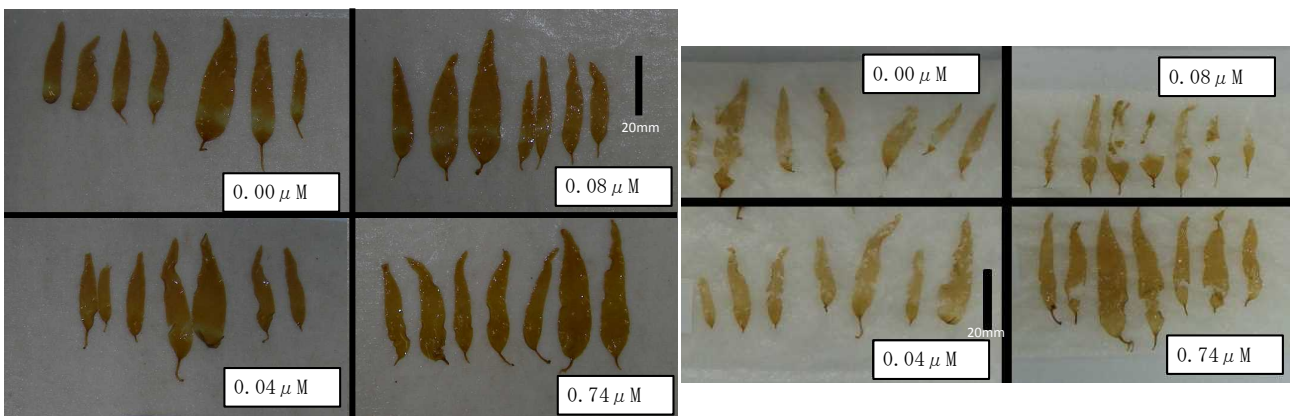


図 5 3R 中間時 (8 日経過 : 左) および終了時 (14 日経過 : 右) の葉体

おける DIP 濃度別生長量を図 6 に示した。生長量はそれぞれ 12.4 ± 1.6 , 16.1 ± 2.1 , 17.9 ± 2.7 , 21.5 ± 0.8 , 18.3 ± 0.9 , 22.4 ± 3.8 (mm) となった。平均 DIP 濃度が 0.08 と $0.28 \mu\text{M}$ 区の間 ($P < 0.05$), 0.08 と $0.51 \mu\text{M}$ 以上の各試験区との間 ($P < 0.01$) で生長量に有意な差が見られた。また 0.28 と $0.76 \mu\text{M}$ 区の間 ($P < 0.01$), 0.28 と $1.21 \mu\text{M}$ 区の間 ($P < 0.01$) および, 0.51 と $1.21 \mu\text{M}$ 区の間 ($P < 0.05$) でも生長量に有意な差が見られたが, それ以外の組み合わせでは有意な差がなかった。なお 4 R では図 7 のとおり 14 日経過後の試験終了時まで全ての試験区で穴あき症状が見られなかった。

各試験区の平均 DIP 濃度と日間生長率との関係を図 8 に示した。幼葉試験については試験後半で穴あき症状が発生した事例が見られたことから, 比較条件をできるだけ等しくするため 2~4 R については中間計測時までの生長量から算出した生長率を用いて比較した。図 8 から, 幼体試験と幼葉試験では日間生長率が大きく異なっており幼体試験の方が全体的に高い生長率を

示しているものの, いずれも最大生長を示す DIP 濃度は $0.8 \mu\text{M}$ 程度であると推測された。

考 察

本研究の前提として, DIP 濃度が検出限界値以下であれば生長しないことを想定していたものの, 実際には図 8 のとおり検出限界値以下の DIP 濃度においても日間生長率 3% 前後の生長を示した。海藻類が余剰の窒素を細胞内に貯留できることは一般的に知られている⁶⁾ ことから, リンについても窒素と同様に細胞内に一定のリンを貯留しており, DIP 濃度が検出限界値以下になっても, 一定の期間は貯留分のリンを使って生長できる可能性が本試験の結果からうかがえた。この影響を排除するためには, 試験に供する葉体を事前に無リン海水で培養して藻体内に貯留したリンを枯渇させてから培養することが考えられるが, 藻体内のリン貯留量を生きたまま測定することは不可能である。こ

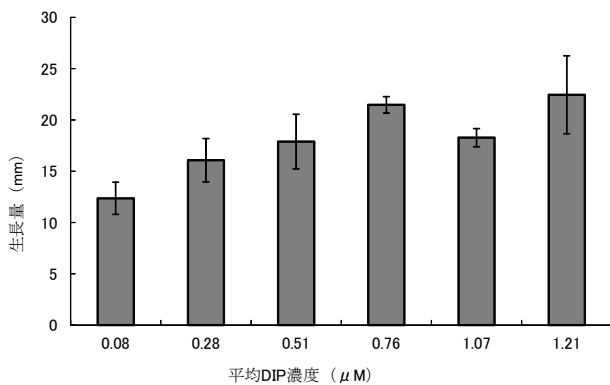


図 6 4 R 終了時 (14 日経過) の生長量

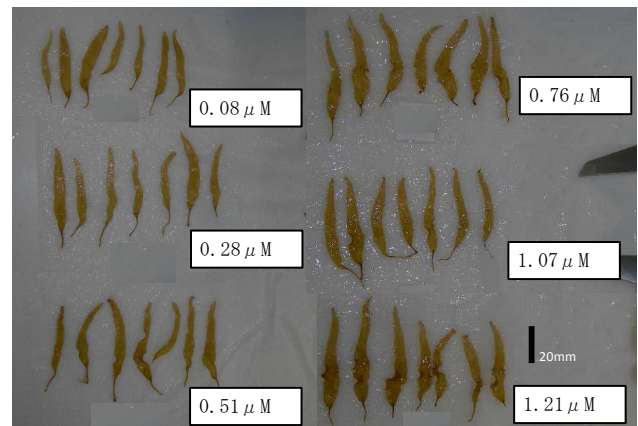


図 7 4 R 終了時 (14 日経過) の葉体

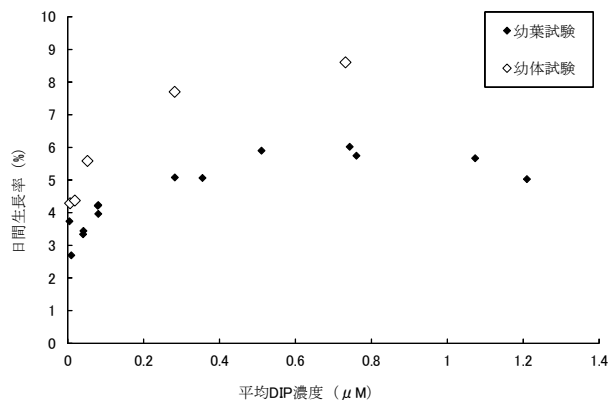


図 8 平均DIP濃度と日間生長率の関係



図 9 斑点性先腐れ症 (2014 年 2 月志賀島漁場)

のため本研究では、検出限界値である DIP 濃度 $0.02\mu\text{M}$ 以下の試験区を無リン海水と定義し、以下無リン海水と比較して有意にワカメが生長する DIP 濃度を検討することとした。

また生長の指標として葉長を測定したが、図 8 に示したとおり幼葉試験の日間成長率は幼体試験を大きく下回った。1 R では試験開始から15日後の葉長を比較できた一方で、2 R と 3 R では10日程度経過後に葉体が溶解して測定不能となり、健全な葉体を測定して比較出来たのは試験開始から6～8日後までの葉長であった。つまり今回の幼葉試験においては日間成長率が低いうえに試験期間も短くなってしまったため、葉長の変化率が幼体試験よりかなり小さくなってしまふことから、葉長を比較しても有意な差が生じない可能性がある。このため幼葉試験の結果については葉長に加えて各試験区の生長量を算出して比較を行った。

無リン海水の試験区について見ると、葉長に有意な差が生じたのは、1 R では DIP 濃度が 0.02 と $0.05\mu\text{M}$ 区の間であった。2 R 以降では葉長に有意な差が生じなかったものの、生長量に有意な差が生じたのは、2 R では DIP 濃度が 0.01 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間、3 R では DIP 濃度が 0 と $0.08\mu\text{M}$ 区の間であった。つまり幼体試験・幼葉試験の結果から、無リン海水と比較して有意に生長する DIP 濃度は $0.05\sim 0.08\mu\text{M}$ であることが示された。なお、これより低い DIP 濃度、例えば 1 R では 0.01 と $0.02\mu\text{M}$ 区の間、2 R では 0.01 と $0.04\mu\text{M}$ 区の間、3 R では 0 と $0.04\mu\text{M}$ 区の間には葉長あるいは生長量に有意な差が生じていない。このことから、ワカメ幼体、幼葉の生長から見た DIP の下限値は $0.05\sim 0.08\mu\text{M}$ と考えるのが妥当と考えられた。

一方図 8 から、ワカメ幼体、幼葉が最大生長率を示す DIP 濃度は $0.8\mu\text{M}$ 程度であると想定された。また幼体試験では幼葉試験より高い生長率を示したものの、最大生長率を示す DIP 濃度は幼葉と同程度であると思われる。培養条件が異なっているのは水温、株の由来、葉体のサイズであり、この差が生長率の差になっていると思われるが、最大成長率を示す DIP 濃度については図 8 から判断する限りこうした条件に関わらず一定であると思われる。成葉に関する知見のない現状においては、先述の下限値についても同様に一定であると仮定し、本試験で得られた DIP 濃度の下限値を成葉に応用しても問題ないものと思われる。

福岡湾では図 9 のような斑点性先腐れ症がしばしば発生し、症状の進行が早い過去には大きな漁業被害が生じている。⁷⁾ この症状は東北地方でも報告されており、本症発症の原因については、環境悪化により

ワカメに生理低下が生じた結果、グラム陰性菌に属する常在菌が感染して発症する⁸⁾とされている。本試験でも 2 R および 3 R で DIP 濃度の低い試験区を中心として穴あき症状が見られ、かつその進行も早かった。抗生物質を添加した 4 R では全ての試験区で穴あき症状が見られなかったことから、今回の症状は細菌性の疾病である可能性が高く、2 R および 3 R の試験終了時の写真(図 3 および図 5 の右側写真)の症状や進行の早さから見て、本試験で発生した症状は漁場で発生する斑点性先腐れ症と同じものである可能性が示唆された。

本試験では DIP が高濃度の試験区では症状の発症が遅く、14日後の藻体も比較的健全であった一方、平均 DIP 濃度が $0\sim 0.08\mu\text{M}$ の範囲では10日程度で穴あき症状を発症した。福岡湾では、DIP 濃度が検出限界値以下となったまま2週間以上経過した場合、斑点性先腐れ症が発症して急速に進行する可能性が高いことが漁業者の間で経験的に知られており、本試験の試験期間もこれを参考に2週間程度とした。試験の結果もこの経験則を裏付けるように、DIP 濃度が低いほど斑点性先腐れ症の発症を誘発しやすく、かつ症状の進行が早いことを示唆している。すなわち、海水中の DIP 濃度がワカメの生長に必要な濃度を下回った場合、ワカメは藻体内のリン貯留を使って生命活動を維持するためすぐに影響は出ないものの、低い DIP 濃度が継続してリン貯留が枯渇してしまえば、生理活性の低下を招き、常在菌によって葉体が冒され始め、斑点性先腐れ症が発症することが推測された。

以上のことから、福岡湾におけるワカメ養殖に必要な DIP 濃度の基準値としては、本研究の結果から得られたワカメ幼体、幼葉の下限値 $0.05\sim 0.08\mu\text{M}$ がワカメの成葉にも当てはまると仮定した上で、他県の例^{1, 2)}も参考に、より実態に即した基準値として、漁期を通じて $0.1\mu\text{M}$ に設定するのが望ましいと思われる。福岡湾内全体で冬期に貧栄養化が進み³⁾湾内のノリ養殖でも DIP 欠乏による色落ちが生じている⁹⁾中、貧栄養対策は福岡湾における重要な課題である。具体的な対策としては、瀬戸内海で実施されているダム放流やため池の底さらい、施肥、下水処理施設の栄養塩管理運転¹⁰⁾などが挙げられるが、福岡湾の場合こうした対策が取られたとしても負荷源が湾奥部にあるため、ワカメ養殖が行われる湾口部まで効果が及ぶかどうかは今後の検討課題である。福岡湾口部のワカメ養殖海域においては、本研究で示した DIP 濃度 $0.1\mu\text{M}$ を基準として養殖管理を実施していくのが適当であると考えられた。

文 献

- 1) 湯浅明彦, 酒井基介, 宮田 匠. 海域藻類養殖漁場環境調査. 平成8年度徳島県水産試験場事業報告書 1998 ; 141-145.
- 2) 佐野雅基, 上之郷谷健治. 藻類養殖指導. 平成15年度大阪府立水産試験場事業報告 2005 ; 123-131.
- 3) 江藤拓也, 片山幸恵, 江崎恭志. 2008年から2010年における福岡湾でのノリ, ワカメ養殖の不作要因について. 福岡県水産海洋技術センター研究報告 2012 ; 22 : 33-40.
- 4) 佐藤博之, 後川龍男. 福岡湾における養殖ワカメの収穫量と漁場環境. 福岡県水産海洋技術センター研究報告 2006 ; 16 : 31-34.
- 5) 本村泰三. 培養法(3) 培養液の調整(海藻). 「藻類学 実験・実習」(有賀祐勝, 井上 勲, 田中次郎, 横濱康繼, 吉田忠生編) 講談社, 東京. 2000 ; 170-171.
- 6) 吉田吾郎, 新村陽子, 樽谷賢治, 浜口昌巳. 海藻類の一次生産と栄養塩の関係に関する研究レビューーおよび瀬戸内海藻場の栄養塩環境の相対評価ー. 水産総合研究センター研究報告 2011 ; 34 : 1-31.
- 7) 篠原直哉, 大村浩一, 内場澄夫, 本田清一郎. 福岡湾におけるワカメ養殖の不調について. 平成7年度福岡県水産海洋技術センター事業報告 1996 ; 105-111.
- 8) 木村喬久, 絵面良男, 田島研一. 気仙沼湾におけるワカメあなあき症ならびにワカメ養殖環境の微生物学的検討. 東北区水産研究所研究報告 1976 ; 36 : 57-65.
- 9) 小池美紀, 淵上 哲. 溶存態無機リン欠乏がスサビノリ (*Pyropia yezoensis*) に及ぼす影響. 福岡県水産海洋技術センター研究報告 2013 ; 23 : 33-42.
- 10) 反田 實, 原田和弘. 貧栄養化への対策事例と将来への課題. 水環境学会誌 2011 ; 34 (2) : 54-58.