

培養下における大型糸状緑藻 *Cladophora glomerata* (カワシオグサ)の初期発生

Early development of the filamentous green macroalga *Cladophora glomerata* in culture

内田朝子¹⁾・飯間雅文²⁾

Asako UCHIDA and Masafumi IIMA

要 約

矢作川中流域で異常繁茂する大型糸状緑藻カワシオグサ *Cladophora glomerata* の成長抑制を図るにあたり、その生態的特性を把握する目的で室内培養を行った。矢作川中流域に生育する *C. glomerata* を用い、水温 15°C、14 時間明期・10 時間暗期、照度 10,000 ルクス（光強度換算概算値 $110 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）の条件下で培養したところ、遊走子嚢の形成、遊走子の放出・遊走子の発芽および初期発生を確認した。本培養では、培養 7 日で遊走嚢が形成、培養 8-9 日で遊走子が放出され発芽した。さらに、培養 10 日で発芽体は $100 \mu\text{m}$ の糸状体に伸長、培養 20 日で 2 細胞に増殖、培養 30 日で天然藻体と同様の形態に成長および二又分枝開始、培養 60 日で分枝した糸状体に達した。

はじめに

矢作川中流域を中心とした初夏の大型糸状緑藻カワシオグサ *C. glomerata* の著しい発生は、附着珪藻や藍藻を餌とする水産資源のアユの良質な餌環境に影響を及ぼしており、その発生抑制対策には期待が寄せられている（田中，2000；内田，2002）。これまでのところ、矢作川中流域で繁茂する *C. glomerata* にインパクトを与える目的で砂利投入実験が試みられているが、顕著な効果のみに至っていない（田中，1997，1998，1999）。また、2000 年 9 月には矢作川上流部の時間雨量 60mm、累計雨量 400mm 以上をもたらした既往最大級とされる東海豪雨（田中，2002）による出水が中流域をも襲ったが、*C. glomerata* は消滅せず、その後も発生が確認されている（内田ら，2002，2004）。

矢作川における *C. glomerata* の消長の継続観測では、初夏と秋の 2 回、繁茂のピークを示すことが確認されている（内田ら，2004）。しかし、継続観測では生活史や増殖形式などの詳細な生態についてわからないことが多い。*C. glomerata* の発生抑制を講じるにあたっては、その生活史を把握し、効果的な方法や時期を検討することが必要である。

そこで、*C. glomerata* の生活史の把握を目的に、矢作川中流域で採取した藻体を用いて培養を試みた。ここでは *C. glomerata* 発生初期の様子を報告する。

材料と方法

培養には矢作川越戸町（河口から 44km 地点）で 2004 年 11 月 8 日と 11 月 18 日に採取した *C. glomerata* の藻体を用いた。採取時の水温はそれぞれ 14.1°C、12.4°C であった。採取地に附着生育していた *C. glomerata* の藻体体長は約 1cm であった。

採取した *C. glomerata* の藻体を研究室に持ち帰り、蒸留水を満たしたシャーレで水洗いし、藻体表面の泥や珪藻などを落した。水洗いはシャーレを 4~5 回取り替えて行った。次に、藻体を実体顕微鏡下で附着物が除去されたことを確認した後、カミソリを用いて約 4~5mm の小枝に切り分け（図 1）、切り枝ごとを 40ml の培養液を入れた試料カップ（ポリエチレンテレフタレート樹脂、ケニス株式会社製、径 6cm、高さ 3.5cm）に入れた。

培養液は淡水 PES（プロバプリの栄養補強海水 Provasoli's Enriched Seawater 原液を滅菌河川水に添加したものを『淡水 PES 培養液』と呼称）を用いた。河川水の滅菌は採取した表流水をフィルターろ過した後、2L の三角フラスコに入れ、オートクレーブで 120°C、20 分間処理した。表 1 の組成を蒸留水に溶かし、pH 調整後、1000ml としたものを PES 原液とし、オートクレーブで滅菌し、室温に戻した後、滅菌河川水 1000ml に 20ml の割合で加えた。珪藻の除去には、二酸化ゲルマニウム (GeO_2) を用いた。 GeO_2 250mg を 1000ml の蒸留水に加え原液とし、試料カップ 40ml の培地に 1ml (GeO_2 0.25mg) を添加した。

培養は人工気象器（東京理化学株式会社，FLI-301N 型）を用い、15°C、日長条件は 14 時間明期・10 時間暗期、照度は 10,000 ルクス（光強度換算概算値 $110 \mu\text{mol}$

m^2s^{-1})とした。培養は天然藻体を採取した翌日から開始した。試料カップの藻体は2~5日ごとに顕微鏡下で観察を行った。淡水 PES 培養液の取り替えは毎週1回行った。

表1 培養試薬。

1. 蒸留水	1000ml
2. $NaNO_3$	3.5g
3. Na_2 glycerophosphate	0.5g
4. Fe (as EDTA)	25mg
5. PII 微量金属液※	250ml
6. Thiamine HCl	5mg
7. Biotin	50 μ g
8. Tris buffer	5g
※ PII 微量金属液	
1. 蒸留水	1000ml
2. Na-EDTA	1000mg
3. $FeCl_3$ (無水)	29mg
4. H_3BO_3	1176mg
5. $MnCl_2 \cdot 4H_2O$	144mg
6. $ZnCl_2$	10.42mg
7. $CoCl_2 \cdot 6H_2O$	4.04mg

結果および考察

試料カップ内の藻体は2~5日ごとに顕微鏡下で成長の経過を観察した。培養に供した天然藻体の先端細胞にはすでに原形質が抜けて空洞になった細胞もみられた(図1)。培養開始から7日を経過すると、先端細胞もしくは先端に近い細胞では、放出孔が形成され(図2)、遊走子の放出が始まった(図3)。1細胞内の遊走子の放出は、数十秒間でいっきに行われた。放出は明期に入って5時間を経過したところに活発であった。

培養開始から8-9日を経過すると、母藻の多くの細胞は原形質が抜け空洞になった(図4)。母藻には所々に緑色のフロックが付着し(図5,6)、試料カップ底には緑色のマットが付着した(図5)。それらをピペットアップし生物顕微鏡で確認したところ、遊走子が発芽し、密に集合して付着している状態が観察された(図7,8)。試料カップ底に付着していた発芽体の集合体をカミソリの刃を用いて切り分け、一部を新しい培地に移した。

培養10-13日で発芽体は100 μ mほどの糸状体に成長した(図9,10)。培養21日で2細胞に増殖した細胞(図11)や先端が膨らみ、でこぼことした状態になる細胞がみられた(図12)。

培養30日ごろから、糸状体は原形質に満たされるとともに細胞壁も厚くなり、天然藻体と似た状態まで成長す

るものもみられた(図13,14)。この頃には先端が二分分枝を開始する細胞も観察された(図15)。培養57日で天然藻体と同様の分枝がみられる状態にまで成長した(図16)。

野外においては *C. glomerata* が衰退を始める頃に、藻体に白い部分が認められることがある。過去の例では、2000年11月29日に豊田市千石町で採取した *C. glomerata* の藻体に白い部分の形成を確認した。白い部分は顕微鏡下で観察したところ、原形質が抜け空洞になった細胞の集合であった。その観察時、ほとんど空洞になった細胞内に数個の遊走子を確認した(内田,未発表)が、遊走子の放出の瞬間の様子や放出に要する時間は不明であった。本培養によって遊走子の放出はわずか数十秒間に行われることが判明した。遊走子の鞭毛数はほとんど2本であったが、別藻体で2鞭毛と4鞭毛が同一個体から放出されるのが確認できた。

これまでのところ、野外で採取した石表面の付着物中に本培養で確認した発芽体と同様の藻体を見出したことがない。発芽が流れのある河川のどのような環境下で行われているかは不明である。遊走子が礫の罅のすき間に着床することは十分考えられるが、発芽体は細胞壁の形成が未熟であると考えられるために、剥離に用いるナイロンブラシによる直接的なインパクトやシルトや有機物と混ぜ合わさる際のインパクトによって原形が崩れるなどして確認されにくい状態になっているのかもしれない。培養系における発芽初期の藻体が、実際の河川のどのような環境に適応し生育しているのか、野外の詳細な観察も培養と並行して行うことが必要である。

C. glomerata の生活史は、新山(1994)によって記載されている。本培養で矢作川産の *C. glomerata* でも新山が示した遊走子嚢の形成、遊走子の発芽、分枝した糸状体までの初期発生過程を確認することができた。しかし、配偶子やその接合の確認に及ばず、生活史全容の解明には未知な部分が多く残されているため、今後のさらなる研究が必要である。

今後、本培養を継続することによって、*C. glomerata* の生活史を解明することはもとより、水温、照度、明暗周期、栄養塩濃度、珪藻との競合など環境要因をコントロールして成長速度の違いを把握し、本藻の成長抑制に効果的な条件を見出したいと考えている。

Summary

Early development of the filamentous green macroalga *Cladophora glomerata* was observed in culture. *C. glomerata*

collected from the middle reach of the Yahagi River were incubated under the following temperature and light conditions: at 15°C, 14:10h L:D periods, 10,000lx (ca. $110 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ photon density).

After 7 days in culture the original cells of collected natural plants of *C. glomerata* formed zoosporangium, in 8-9 days zoospores were released and germinated, in 10 days each germling elongated 100 μm long. After 20 days they divided to produce 2 cells, and in 30 days they grew like a natural plant and produced branches. In 60 days each germling increased branches.

文 献

- 新山優子 (1994) 藻類の生活史集成 第1巻 緑色藻類 カモジシオグサ, 堀 輝三 (編) : 216-217.
- 田中 蕃 (1997) 砂利投入による河床構造回復の試みとその効果. 矢作川研究, 1 : 175-202.
- 田中 蕃 (1998) 砂利投入による河床構造回復の試みとその効果 II. 矢作川研究, 2 : 191-223.
- 田中 蕃 (1999) 砂利投入による河床構造回復の試みとその効果 III. 矢作川研究, 3 : 203-246.
- 田中 蕃 (2000) 砂利投入による河床構造回復の試みとその効果 IV. 矢作川研究, 4 : 135-141.
- 田中 蕃 (2002) 矢作川における平成12年9月「東海豪雨」の影響. 矢作川研究, 6 : 125-138.
- 内田朝子 (2002) 矢作川中流域におけるアユの消化管内容物. 矢作川研究, 6 : 5-20.
- 内田朝子・藤井勇・山戸孝治 (2002) 矢作川における大型糸状緑藻の時空間変動. 矢作川研究, 6 : 113-124.
- 内田朝子・近藤和広・竹内康之・永田直人 (2004) 矢作川, 豊川, 長良川における大型糸状緑藻の発生状況. 矢作川研究, 8 : 89-98.

豊田市矢作川研究所 : 〒471-0025 愛知県豊田市西町 2-19
豊田市職員会館 1F
長崎大学環境科学部自然環境保全講座 : 〒852-8521 長崎
市文教町 1-14

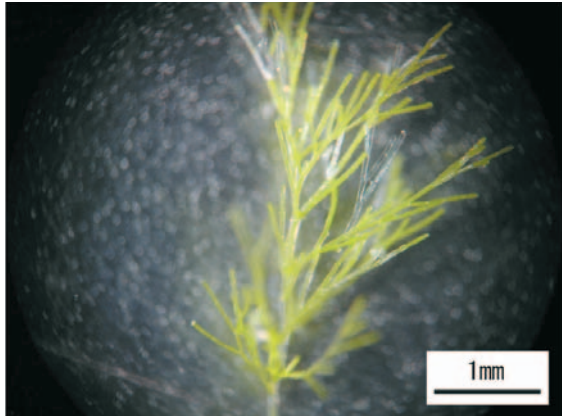


図1 天然藻体 (培養開始時).

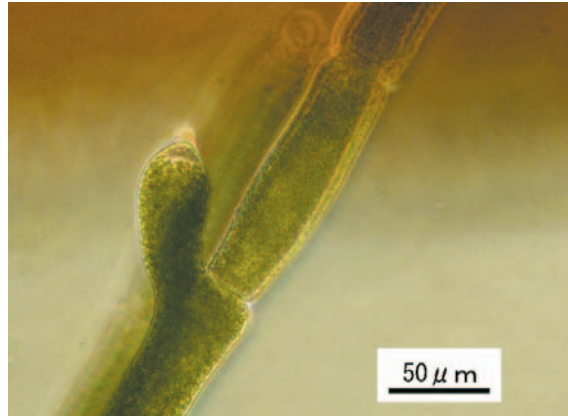


図2 放出孔の形成.

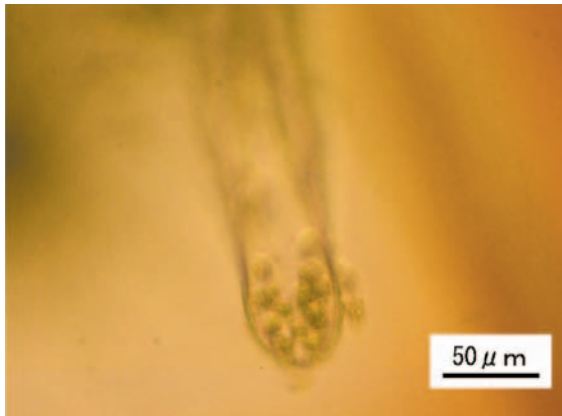


図3 遊走子.

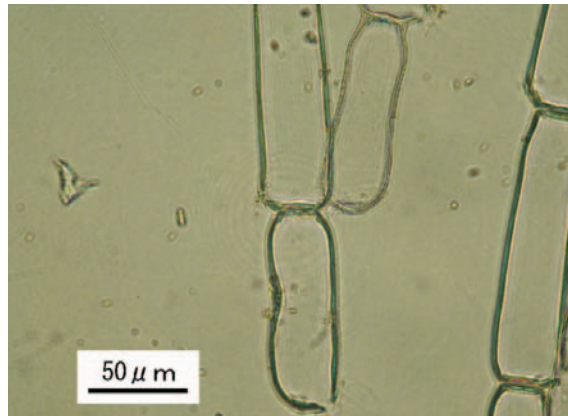


図4 遊走子が放出され空洞になった細胞.

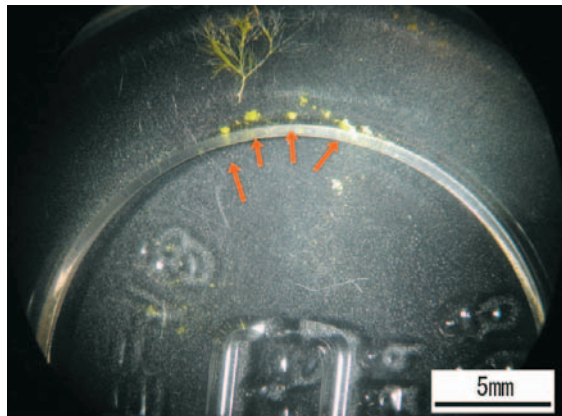


図5 試料カップ底に緑色のマットが形成.

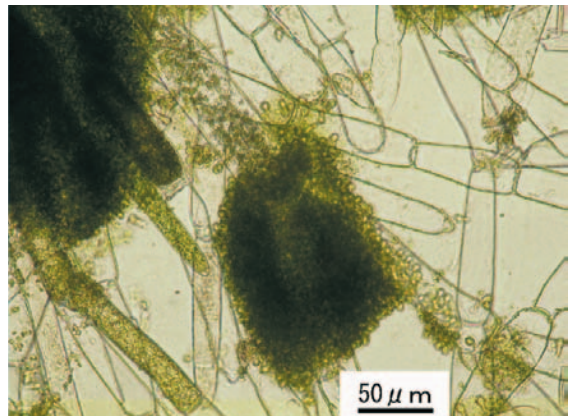


図6 母藻に密集付着した発芽体.

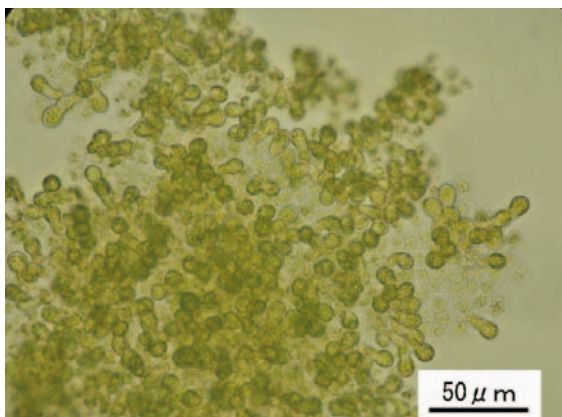


図7 試料カップ底の発芽体.

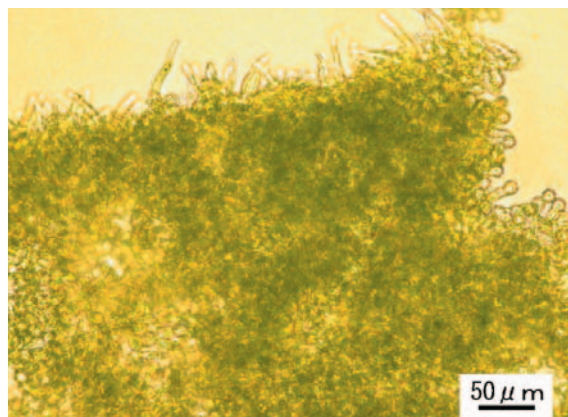


図8 培養9日の様子.

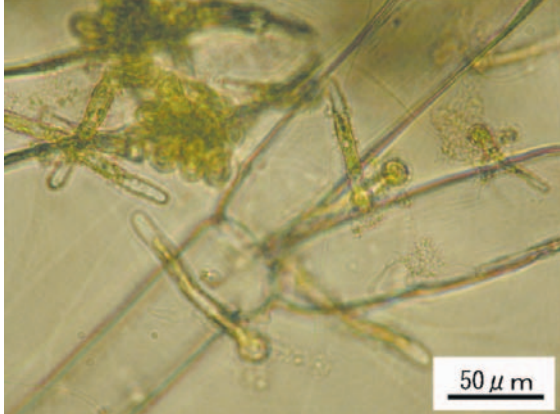


図9 培養10日.

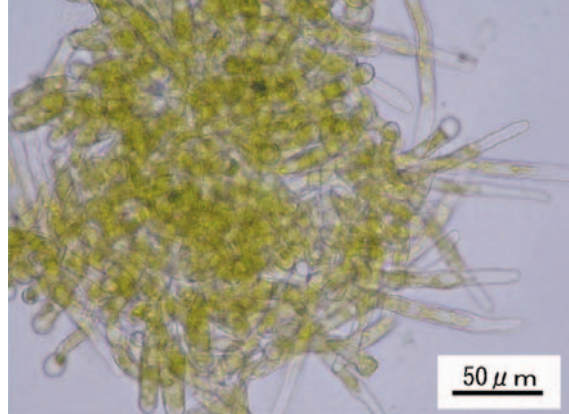


図10 培養13日.



図11 培養21日.



図12 培養21日.

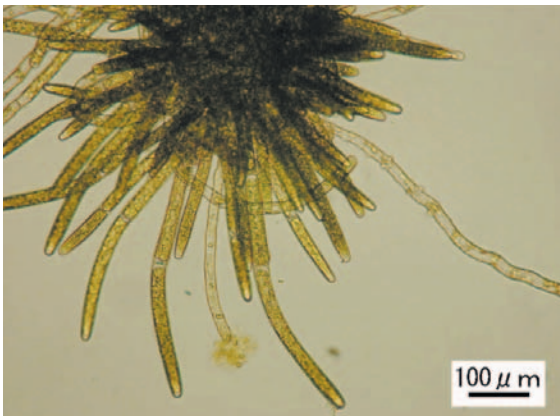


図13 培養30日.

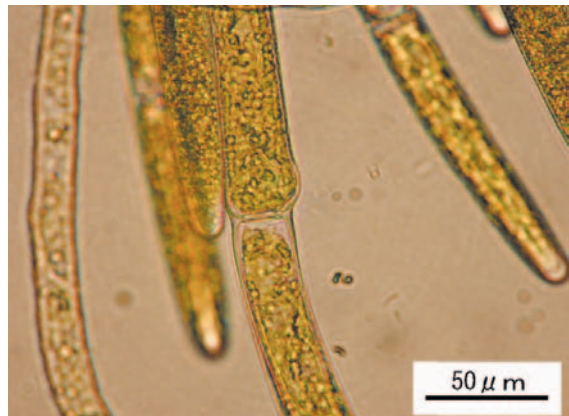


図14 培養30日.

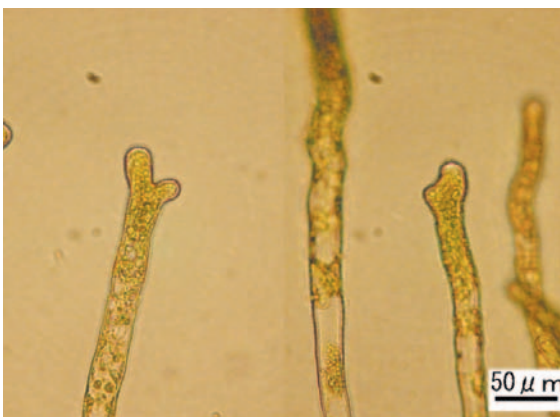


図15 培養30日(二分枝開始).

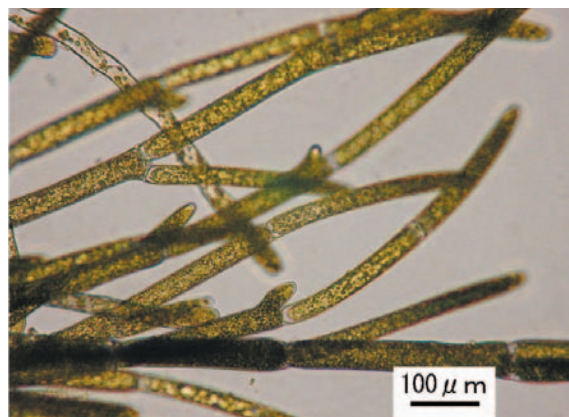


図16 培養57日.