

## 海域施肥時のコンブ等の生育に及ぼす施肥原料成分の影響に関する 水槽実験結果 - 転炉系製鋼スラグ等を用いた藻場造成技術開発(3) -

堤 直人	新日本製鐵(株) 技術開発本部 環境・プロセス研究開発センター
加藤 敏朗	新日本製鐵(株) 技術開発本部 先端技術研究所
本村 泰三	北海道大学 北方生物圏フィールド科学センター
中川 雅夫	新日本製鐵(株) スラグ・セメント事業推進部

Influence of Marine Fertilizing Components on Growth of *Laminaria religiosa*.  
Development for Recovery from Barren Ground using Steelmaking-slag et al. -3.

TSUTSUMI, Naoto	Nippon Steel Corporation
KATO, Toshiro	Nippon Steel Corporation
MOTOMURA, Taizo	Hokkaido University
NAKAGAWA, Masao	Nippon Steel Corporation

### Abstract

Several fundamental experiments from laboratory scale using artificial culture medium to 2 tons aquarium using natural seawater were performed to clarify the effect of fertilizing method on recovering from Barren ground (ISOYAKE), and some interesting results were obtained as follows;

- 1) From the nutritional experiments using ASP<sub>12</sub>NTA medium containing various concentration of EDTA chelated iron, oogonium and antheridium formation of *Laminaria religiosa* collected at Mashike, Hokkaido, was increased with iron concentration.
- 2) From the growth experiments in the aquarium using natural seawater with varying the combination of fertilizing components, zoospores of *L. religiosa* developed to the sporophytes with active maturation of gametophytes, most effectively in the case of using steelmaking slag and humic substances during winter season.
- 3) Another growth experiments using natural seawater with varying the combination of fertilizing components, growth of *L. religiosa* occurred more effectively in the case of combination with steelmaking slag and fish meal during summer season.
- 4) Both winter and summer season, fertilizing effects on growth of *L. religiosa* were not so conspicuous. It would be caused by not enough supply of iron from slag.

### 1 緒言

わが国、とりわけ北海道日本海側沿岸域において、コンブやホンダワラ等の有用海藻類が生育できない「磯焼け」とも呼ばれる現象<sup>1)</sup>が進行し、漁獲高の減少という深刻な問題をもたらしている。磯焼けは、海水温の上昇やウニや魚類の過剰な食圧によるといった諸原因が複合して発生すると言われており<sup>2-4)</sup>、後者については食害に遭いにくい基質を投入する方法や、食害動物を直接駆除する方法等、種々の対策が図られている。さらに、北海道日本海側の磯焼け海域では、栄養塩である硝酸塩の還元や光合成等、藻類の生長に必要な要素である鉄分の濃度が極端に低く<sup>5)</sup>、この鉄濃度低下が磯焼け現象へ影響を及ぼしている可能性<sup>6)</sup>も示唆されている。

著者らが北海道増毛漁業協同組合の協力の下、磯焼け現象の調査を行ってきた北海道増毛町舎熊の海域では、食害動物

であるウニの個体数が多くないことから、当該海域でのコンブを始めとする藻場の造成には、鉄分などの栄養素の供給が効果的となる可能性が考えられた。更に、藻類の生育に必須である鉄分の形態は、一般的には海水中に溶存する二価鉄と考えられるが、この二価鉄は海水中の溶存酸素により速やかに三価鉄まで酸化されて水酸化コロイドとして沈殿してしまうため、溶存二価鉄をいかに安定に増加(供給)させるかが重要なポイントになると考え、鉄鋼製造時の副産物で二価鉄を多く含有する転炉系製鋼スラグ(以下、製鋼スラグと称す)と、廃木材チップを発酵させて製造した人工腐植土を混合した藻場造成材料(以下、施肥ユニットと称す)を海域汀線部に埋設する施肥実験を、東京大学、工学院大学、西松建設(株)ならびに(株)エコ・グリーンと共同で平成16年の秋から開始し、翌17年以降、施肥部を中心としたコンブ等、藻場造成を確認し<sup>7-8)</sup>、本シンポジウムにおいても施肥3年

後の昨年の藻場造成状況<sup>9)</sup>および昨年に実施した実験海域での微量二価鉄を含む水質調査結果<sup>10)</sup>を報告予定である。

しかし、2年目までは実験海域と比較海域の海水中の二価鉄濃度が、当時の分析精度では共に検出限界以下で有意差が認められない<sup>8)</sup>あるいは海水温が年毎に変化する等外乱要因が多く存在する自然界を対象とした実海域実験においては、コンブ等の再生が施肥ユニットからの二価鉄供給による効果と結論づけるだけの決定的根拠が不十分であることは否定できない。そこで、施肥によるコンブ生育促進の効果を少しでも明らかにする目的から、鉄濃度ないし施肥ユニット原料の組み合わせを変化させてコンブを生育させる各種の水槽実験を行った。

## 2 実験概要

緒言に述べた藻類、中でも今回の藻場造成の主たる対象であるコンブの生育に及ぼす鉄分の効果については、1981年に著者らの一人が、北海道・室蘭地区で採取したミツイシコンブを用いて、その配偶体成熟に及ぼす海水補強培地中の各種成分の影響に関する研究室レベルでの基礎実験を行い、培地中成分の中でも鉄の濃度、とりわけFig.1に示すようにキレート化された二価鉄成分の濃度の増加に伴い、雌雄配偶体の成熟率が高まる<sup>11)</sup>という結果を報告している。

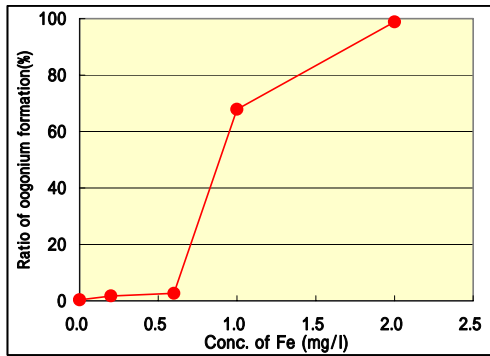


Fig.1 ; Relation between concentration of EDTA chelated iron and oogonium formation of *Laminaria*<sup>11)</sup>

今回、北海道・増毛町で実施した施肥実験での藻場造成に対する施肥効果を裏付ける目的から、上述の培地方法で、(1)増毛町で採取したホソメコンブを用いての配偶体成熟に及ぼす鉄濃度の影響に関する再現性確認実験を行った。

次に、研究室レベルの実験結果と実海域での実験結果の間を補完すべく、増毛町の町営あわびセンターに既設の2種類の水槽を借用して、

- (2)遊走子放出から配偶体成熟、受精を経て発芽に至る期間(秋～春)および
- (3)発芽したコンブの孢子体が成長する期間(春～夏)における、実海水を用いて施肥ユニット原料の組み合わせを変化させた水槽実験を実施した。

### 2.1 実験方法(実験条件)

#### (1) 研究室における培地実験

北海道大学北方生物圏フィールド科学センターの室蘭臨海実験所において、鉄分を含まないA S P<sub>12</sub> N T A培地溶液にE D T A試薬で1:1のモル比にキレート化した二価鉄を0~5(Fe-mg/L)の濃度範囲で添加した試験液30mlを容量100mlのErlenmeyerフラスコに準備し、そこに増毛にて採取されたホソメコンブが放出した遊走子を入れ、温度14で14時間日照~10時間遮光の長日条件で1ヶ月間培養を行い、配偶体の成熟状況を顕微鏡で観察した。

#### (2) 遊走子放出~孢子体発生期における水槽実験

Fig.2Aに示すような、増毛町営あわびセンターの屋外に設置された容量約2トン(1.7\*1.7\*0.8m)の水槽を用いて、センター近傍の海岸から常時、汲み取られる海水(1槽当り、毎分約75L)の注水部の水槽壁に、同じく増毛町の施肥実験区域で10月末に長さや重さをほぼ揃えて採取した、子嚢斑を含むコンブの根元部分を固定した。

そこに、製鋼スラグと人工腐植物質、製鋼スラグのみ、腐植物質のみ、ブランクと施肥材料の組み合わせを変えた施肥ユニット各5kgを透水性の袋に詰めて入れ置きしたうえで、Fig.2Bに示すように11月始めから通水を開始し、その後、約150日通水を行い(水槽あたり延べ100万m<sup>3</sup>の海水を通水)3月末日に通水を停止して、槽内のコンブの生育状況を観察した。

なお、実験に用いた製鋼スラグの成分の化学分析結果をTable1に示す。



Fig.2A ; Test appearance

Fig.2B ; Starting situation

Table 1 ; Chemical analysis results of steelmaking slag (%)

CaO	SiO2	Al2O3	MgO	MnO	FeO	Fe2O3	P2O5	t-S	F
41.2	20.8	2.09	2.26	2.84	21.9	4.32	3.08	0.24	0.03

#### (3) 孢子体成長期における水槽実験

Fig.3に示す増毛町営あわびセンター屋外に設置の容量約2トンの長手水槽(0.7\*10.9\*0.3m)を用いて、海水注入側(上手)にTable2に示すようにユニット原料の組み合わせを変化させた施肥ユニット各5kgを設置し、さらに水槽上手から1/4の辺りに、増毛町の施肥実験区域からほぼ長さを揃えて採取したコンブの孢子体を3本ずつ、ロープに固定した。

なお、本実験においては、増毛漁業協同組合が平成10年から独自で行ってきた<sup>12)</sup>水産加工残渣を発酵させた魚かす発酵加工品(以下、魚粉と称す)の施肥効果も併せて確認する目的で、施肥ユニット原料の一つとして組み込んだ。

この水槽に、5月から7月にかけてセンター近傍の海岸から汲み取られる海水を、1水槽あたり毎分、約15L通水し、コンブの生育状況(湿重量)を適宜、測定した。なお、平均の水流量が7cm/分程度と水槽容量に対して通水量が少なく、事前の予備実験時にコンブ胴体にぬめりが付着し枯れてしまうことが判明したため、水槽底部に設置した配管からのエアレーションを行うと同時に、1日に1回、コンブの表面を軽く手で洗い流す作業も実施した。



Fig.3 ; Test appearance

Table 2 ; Combinations of Fertilizing Unit

1st.	No.	Combination of Fertilizer
	1	Nothing
	2	Steelmaking-slag only
	5	Slag + Humic Substances
	6	Slag + Fish Meal
2nd.	No.	Combination of Fertilizer
	1	Nothing
	2	Humic Substances only
	5	Fish Meal only
	6	Humic Substances + Fish Meal

## 2.2 実験解析および考察

### (1) 増毛産コンブの配偶体成熟に及ぼす鉄濃度の影響

鉄分フリーとした $ASP_{12}NTA$ 培地溶液に、EDTA試薬でキレート化した二価鉄の濃度を変化させて、増毛産のホソメコンブ遊走子を1ヶ月間培養させた後の、雌雄配偶体の成熟状況を観察した結果を、Fig.4に示す。

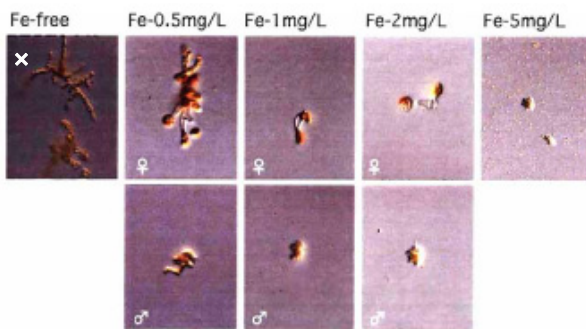


Fig.4 ; *Laminaria* female and male gametophytes in  $ASP_{12}NTA$  medium containing several concentration of EDTA-chelated iron after one month.

この図から、過去に室蘭地区で採取されたミツイシコンブで観察された結果と同様、今回、施肥実験を実施した増毛のホソメコンブにおいても、培地液中の鉄濃度がフリーの場合には、配偶体の成熟が進行しないのに対し、二価鉄濃度が0.5mg/L以上で、雌雄何れの配偶体へも成熟することが確認され、鉄分の必要性を改めて確認することができた。

### (2) 遊走子放出から胞子体発生に至るコンブの生育に及ぼす施肥原料の影響について

次に実海水を用いて、施肥原料の組み合わせのみを変化させた水槽に子嚢斑放出前のコンブをセットし、約150日間、通水のみを実施した後の各コンブの生育状況を Fig.5に、また実験終了時に各水槽内から摘み取ったコンブの湿重量を比較した結果を Fig.6に示す。

これらの図から、原料組み合わせの異なる施肥ユニットの設置後、海水を通水し続けたのみの実験にもかかわらず、施肥原料として製鋼スラグと人工腐植物質を組み合わせた場合は内壁4面にコンブが根付き、長さ1m以上に成長しているのに対して、製鋼スラグのみの場合には給水口下に僅かにコンブが生育している程度で、また、施肥のない比較水槽のみならず、腐植物質のみの場合にも、コンブの生育は殆ど見られない結果となり、先に Fig.4 で示した研究室での栄養実験結果と同様に、二価鉄の添加、特に腐植物質との混合により、腐植酸等によってキレート化された状態で添加された場合に、遊走子放出から配偶体成熟～受精～胞子体の発生が促進されるという施肥効果を確認することができた。



(a) with slag & Humic Sub.

(b) Steelmaking Slag only



(c) Humic Substance only



(d) blank (No Unit)

Fig.5; Glowing situation of *Laminaria* with several Fertilizing Unit after 150 days.

(Symbol of Yellow Arrow shows inlet of seawater)

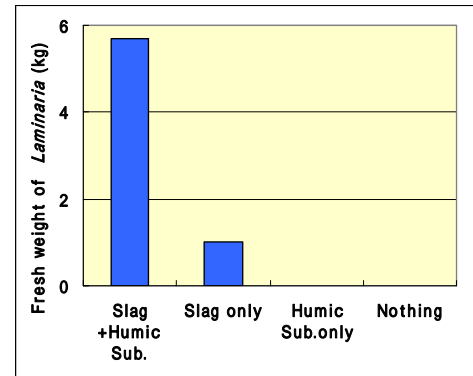


Fig.6; Effects of Fertilizing Unit Combination on the sporophyht of *Laminaria* after 150 days.

但し、本実験を実施した時点では海水中微量二価鉄の分析方法が確立できていなかったため、水槽内の二価鉄分の濃度がどれほどのレベルであったかは特定できておらず、あくまでもユニット原料による違いという定性的評価にしかすぎない結果となってしまった。実際に、実験後に製鋼スラグを回収しても外観状、殆ど変化が見られないものの、仮に、各水槽の総通水量である約100万 $m^3$ に、添加した製鋼スラグ中のFe0分が全て溶解したと仮定しても、海水中二価鉄分の増加は平均で2 $\mu g/L$ 程度と、数値的には、今回、連報<sup>10)</sup>で報告する実海域での鉄濃度の分析結果のレベルに近く、いずれにしても、Fig.4に示した研究室での栄養実験で配偶体成熟に効果が見られた0.5mg(500 $\mu g$ )/Lという閾値とはオーダー感が異なるため、今後も例えば施肥量を変えた水槽再現実験での海水中の二価鉄濃度測定や、遊走子が配偶体に成熟する過程での海水からの鉄分吸収のメカニズムなど、実海域現象と室内栄養実験結果との整合を図る実験や検討を続けてゆく所存である。

### (3) コンブの胞子体の成長に及ぼす、施肥原料の影響について

続いて、前節と同様に実海水を用いて、施肥原料の組み合わせを変化させた水槽内で、コンブの胞子体を生育させた

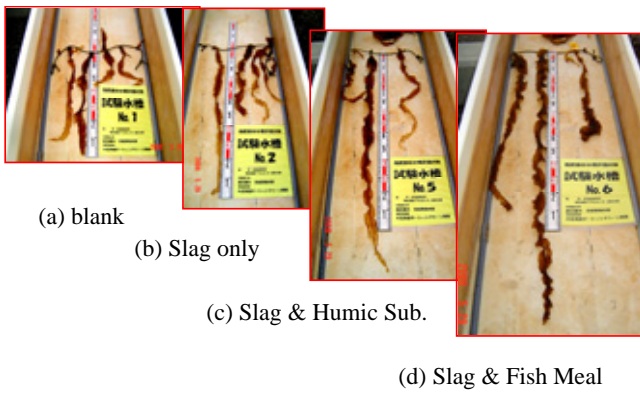


Fig.7; Glowing situation of *Laminaria* with several Fertilizing Unit.

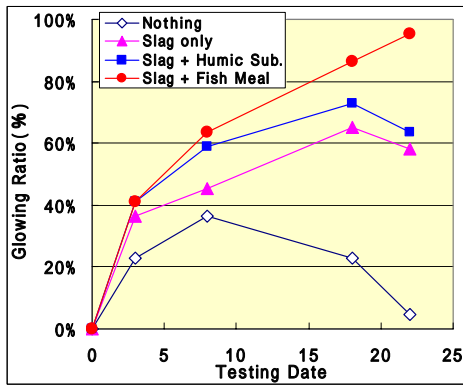


Fig.8; Relation between culture periods and glowing ratio of *Laminaria* with several fertilizing unit. (test-1)

実験について、まずは製鋼スラグを含む1回目の系として、5月7日から29日まで実施した約3週間後のコンブの生育状況を Fig.7 に、また、適宜、重量を測定して求めたコンブの成長率の時系列変化を Fig.8 に示す。また、製鋼スラグを含まない2回目の系として6月20日から8月10日まで実施した、約7週間後のコンブの状況ならびに同じく成長率の変化を、それぞれ Fig.9 および Fig.10 に示す。

第1回目の製鋼スラグを含む系においては、開始後1週間を過ぎた5月16日に外気温が20以上上昇、これに伴い水槽内の海水温も10以上となり、無施肥の場合はコンブの先端から白く枯れ始めたのに対して、施肥を行った3条件はいずれも枯れることなく成長が続き、製鋼スラグのみ<製鋼スラグと人工腐植物質<製鋼スラグと発酵魚粉のユニットの順に、成長率が高くなるという結果が得られ、とりわけ、製鋼スラグと発酵魚粉の場合には、Fig.7(d)に見られるように先端が白く枯れるような現象も見受けられなかった。

これに対して、製鋼スラグを含まない2回目の系の場合、試験期間が主に7月で水槽内の海水温も15以上と1回目と比較し全般的に高めでコンブの成長には厳しい条件にあり、無施肥および腐植物質の場合にはほとんど成長せずむしろ枯れてゆく結果であるのに対し、発酵魚粉を添加した2条件の場合には、枯れることなく成長を維持する結果となった。

温度条件が異なるため、1回目と2回目の製鋼スラグ有無による結果を直接比較することは難しいが、何れもコンブの胞子体が成長する際には、製鋼スラグを原料として含む施肥ユニットでは海水からの栄養吸収への促進効果が高いことがわかり、また増毛漁業共同組合の施肥実験結果の報告<sup>12)</sup>にもある発酵魚粉中に含まれる窒素(約5%)やリン(約3%)といった栄養塩の添加も有効であり、二価鉄そのものの効果

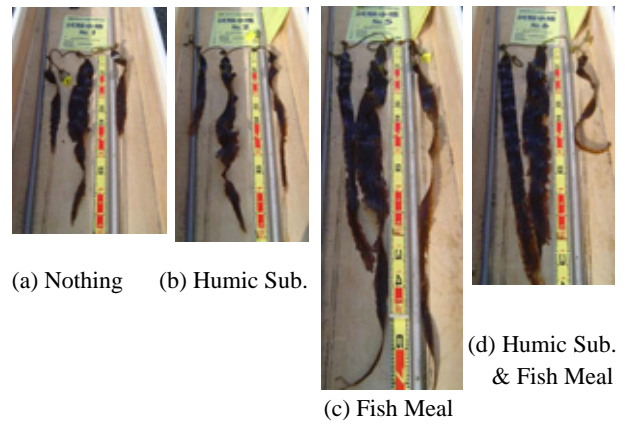


Fig.9; Glowing situation of *Laminaria* with several Fertilizing Unit.

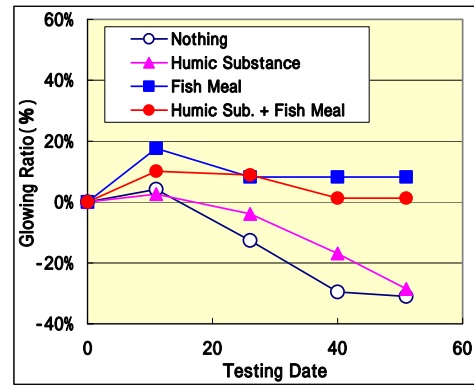


Fig.10; Relation between culture periods and glowing ratio of *Laminaria* under with several fertilizing unit. (test-2)

か否かは未だ不明瞭だが、藻類の栄養分吸収に鉄分が何らかの影響を及ぼしていることが示唆される結果となった。

著名なコンブの生活史の図<sup>13)</sup>を引用・加筆させて頂き、Fig.11に示すようなコンブの受精ならびに成長という過程における鉄分を主体とした施肥効果に関して、定性的ながらも要因を分離する各種実験を行い、何れの実験からも海水中の二価鉄濃度を増加させた場合に各種の効果が見られることが観察され、実海域で進めている製鋼スラグと人工腐植物質からなる施肥ユニット、あるいは増毛漁業共同組合が進めてきた発酵魚粉、などをを用いた藻場造成開発での施肥の効果に関する傍証的な結果を得ることができた。

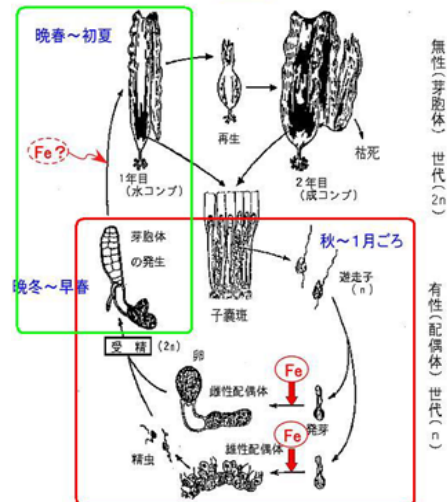


Fig.11; General image of Iron effect for growth of *Laminaria*.<sup>13)</sup>

### 3 結論

本研究では、磯焼け海域へ製鋼スラグと腐植物質の組み合わせで二価鉄を供給する施肥実験にて確認されたコンブ等、藻類生育促進の効果をより明確にする目的から、二価鉄濃度を变化させた室内栄養実験ならびに施肥原料の組み合わせを变化させた実海水による水槽実験を実施した。その結果、増毛のホソメコンブについても、鉄分がフリーの場合には配偶体へ成熟しないのに対し、キレート化させた二価鉄濃度が0.5mg/L 以上の場合に雌雄配偶体への成熟することが確認できた。

遊走子の放出から配偶体成熟～受精～胞子体発生に至る冬季には、製鋼スラグと人工腐植物質を組み合わせた水槽で大きな施肥効果が見られ、室内栄養実験と同様にキレート化させた二価鉄の効果が大きい結果となった。

胞子体が成長する夏季には、製鋼スラグの添加によりコンブの成長促進が見られ、製鋼スラグのみ<製鋼スラグと人工腐植物質<製鋼スラグと発酵魚粉の順に、コンブの成長率が高くなるという結果が得られた。

受精、成長の何れの場合も、製鋼スラグからの鉄分供給がない場合にはその効果が乏しい、ということが判明した。

### 参考文献

- [1] 藤田大介, 堀輝三, 大野正夫, 堀口健雄編:「21世紀初頭の藻学の現況」(日本藻類学会、山形), p.102(2002)
- [2] Harrold. C., Reed. D.C., Ecology, 66, 11160(1985)
- [3] 桑原久実, 川井唯史, 金田友紀: 水産工学, 38(2), p.159(2001)
- [4] 堀江秀夫, 菊池伸一, 阿部龍雄, 清水光弘, 小川尚久, 東智則: 林産試験場報, 17(3), p.1(2003)
- [5] Matsunaga, K., Kawaguchi, T., Suzuki. Y., Nigi, G.: J. Exp. Mar. Biol. Ecol., 241, p.193(1999)
- [6] Suzuki, K., Kuma, K., Kudo, I., Matsunaga, K.: Phycologia, 34, p.201(1995)
- [7] 山本光夫, 濱砂信之, 福嶋正巳, 沖田伸介, 堀家茂一, 木曾英滋, 渋谷正信, 定方正毅: Journal of the Japan Inst. Energy, 85, pp.971-978(2006)
- [8] 木曾英滋, 長谷部廣行, 渋谷正信, 堀家茂一, 定方正毅: 土木学会シンポジウム, pp.182-187(2007)
- [9] 木曾英滋, 加藤敏弘, 堤 直人, 中川雅夫: 本第 20 回海洋工学シンポジウム(2008)にて発表予定
- [10] 加藤敏朗, 相本道宏, 堤 直人, 中川雅夫: 本第 20 回海洋工学シンポジウム(2008)にて発表予定
- [11] Motomura, T., Sakai, Y.: Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 47(12), pp.1535-1540(1981)
- [12] 吉良道子, 竹内廣中, 吉野大仁: 日本水産工学会学術講演会講演論文集, pp.75-78 (2002)
- [13] 例えば, 川嶋昭二編著:「日本産コンブ類図鑑」,(北日本海洋センター), p.18(1989).