

カイガラアマノリ葉状体の生長に及ぼす 温度の影響

村瀬 昇^{1†}, 阿部真比古¹, 福留 慶¹, 中川昌大¹, 鹿野陽介²

Influence of temperature on the growth of red alga *Pyropia tenuipedalis* thalli

Noboru Murase^{1†}, Mahiko Abe¹, Kei Fukudome¹, Masahiro Nakagawa¹
and Yosuke Shikano²

Abstract : This study was designed to clarify the optimal temperatures for growth in uniseriate thalli and foliose thalli of *Pyropia tenuipedalis* in the laboratory culture at 5°C interval from 10°C to 25°C or 30°C. The optimal temperature of uniseriate thalli which used two-cell stage developed from a spherical cell were 15°C and 20°C. And, the optimal temperature of foliose thalli which used young blade with the length about 6 cm was 15°C. It was suggested that these optimal temperatures of uniseriate and foliose thalli were related to the reduction of water temperature from autumn to winter.

Key words : *Pyropia tenuipedalis*, foliose thallus, growth, optimal temperature, uniseriate thallus

諸 言

カイガラアマノリ *Pyropia tenuipedalis* は、東京湾、伊勢湾、大阪湾および瀬戸内海の一部の海域に生育する¹⁾。また、山口県の瀬戸内海沿岸では樫野川および秋穂湾河口域^{2, 3)} や厚東川河口域⁴⁾ で生育が確認されている。

本種は、糸状体上に殻胞子嚢を形成せず、先端部に球形細胞を形成する。球形細胞は分裂し、単列藻体を経て、直接葉状体に生長する^{1, 5, 6)}。養殖対象種のスサビノリ *P. yezoensis* では海苔網に糸状体から放出される殻胞子と幼葉状体から放出される単胞子を大量に着生させることができる。しかし、カイガラアマノリでは殻胞子や単胞子をつくらず、1個の球形細胞から1枚の葉状体しか形成されないため、海苔網を利用する養殖は極めて難しい。

本種が分布する山口県の山口湾沿岸域では、以前から本種を「アカノリ」として自家消費されてきた³⁾。現在では河口域において人工基盤を用いた養殖が行われている⁷⁾。しかし、人工基盤を用いた本種の養殖は、冬季の夜間の干

潮時に行われるため、極寒の中で人工基盤の設置と管理、摘採および加工などの手作業による重労働が伴う。また、近年では、養殖河口域での急激な温度変化などの環境の不安定さが原因となり⁸⁾、生産量は減少傾向にある⁹⁾。そこで、本校と山口県水産研究センターなどが協力して、2015年度から陸上養殖を視野に入れた増養殖技術の開発に関する研究を実施してきた¹⁰⁾。

本種の陸上養殖を推進するには、これまで室内培養実験などで明らかにされてきた糸状体や葉状体の生育に適した条件を適用する必要がある。糸状体の生長および球形細胞の形成については、Notoya et al.⁵⁾ および能登谷ら⁶⁾ が温度、光量および日長の影響について報告し、阿部ら¹¹⁾ が水温との関係について精査して報告した。また、葉状体の生長と成熟については、Notoya et al.⁵⁾ および能登谷ら⁶⁾ が温度、光量および日長の影響について報告している。一方、中山ら¹²⁾ は葉状体の生長と塩分との関係を明らかにしている。

前述のNotoya et al.⁵⁾ および能登谷ら⁶⁾ の葉状体の室内

¹ 水産大学校生物生産学科 (Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University)

² 山口県水産研究センター内海研究部 (Inland Sea Division, Yamaguchi Prefectural Fisheries Research Center)

† 別刷り請求先 (Corresponding author: murasen@fish-u.ac.jp)

培養実験では、球形細胞を形成した糸状体を用いて行われた。これに対し、阿部らは¹¹⁾、糸状体から球形細胞、球形細胞から単列藻体および単列藻体から幼葉状体の各生育段階に分けて培養実験を行い、それぞれの形成に及ぼす温度の影響を検討した。このように生活史段階に分けて生育特性を明らかにすることは、本種の陸上養殖や人工基盤養殖において生育史段階が揃った種苗を大量に確保するための有益な知見となる。そこで、本研究では温度管理によるカイガラアマノリ葉状体の生育特性を明らかにすることを目的として、糸状体上の球形細胞から発芽した直後の単列藻体と葉状体の2つの異なる生育段階の材料を用いて、温度別の培養実験を実施した。

材料および方法

材 料

本研究では室内培養によりカイガラアマノリの糸状体から発生した単列藻体および葉状体を材料とした。単列藻体については、2細胞期のもを次のように予備培養して得た。まず、研究室で光量 $10\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期12L:12D、温度 20°C の下で保存培養中のフリー糸状体を2015年12月に光量 $40\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、短日条件の10L:14D、温度 20°C の下に移して培養を開始し、球形細胞の形成を促進させた¹¹⁾。翌年1月に確認できた球形細胞から2細胞に分裂した単列藻体を本研究で用いた (Fig. 1)。

葉状体については、葉長約6cmのもを次のように予備



Fig. 1. A two-cell stage developed from a spherical cell of *Pyropia tenuipedalis*.

培養して得た。研究室で保存培養中のフリー糸状体を光量 $40\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、12L:12D、温度 20°C の下で貝殻に穿孔させた¹²⁾。2015年7月に明暗周期だけを短日条件(10L:14D)にして糸状体上での球形細胞形成を促進させた。球形細胞から発生し、伸長した全長約0.5~1cmの葉状体を貝殻から切り離し、1Lの培養ビンに培養液とともに入れ、温度別培養実験を開始するまでの間、光量 $60\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、10L:14D、温度 18°C の条件下で通気培養を行い、全長約6cmまで生長させた (Fig. 2)。

予備培養では両者とも培養液として、S-3vitamin, 土壤抽出物, Trisおよび肝臓抽出物を除去したSWM-III¹³⁾の濃度を1/2に調整したSWM-III改変培地^{11, 12, 14, 15)}を用いた。

温度別培養実験

単列藻体を材料とした温度別培養実験では、2細胞に分裂した単列藻体 (Fig. 1) が10~15個体入った50mL培養容器 (Greiner bio-one CELLSTAR®690 170) を2個、温度 10°C から 25°C の 5°C 間隔に設定した培養庫内に設置した。なお、 15°C 、 20°C および 25°C では多室式温度条件試験器 (東京理化器械 MTI-202B) を用い、 10°C では温度が安定するように照射用恒温庫 (TAITEC LX-2300F) 内に水槽を設置し、水槽内に培養容器を固定して実験を行った。光量は $40\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、10L:14Dの短日条件とした。また、培養液は予備培養と同じ1/2濃度のSWM-III改変培地とし、7日間隔で交換した。生長測定については、各培養容器で2細胞に分裂した単列藻体を個体識別し、葉面積



Fig. 2. Foliose thalli of *Pyropia tenuipedalis*.

を実験開始から7日ごとに14日間測定した。顕微鏡デジタルカメラ (OLYMPUS DP70) で撮影した単列藻体の画像をパソコンに取り込み、フリー画像解析ソフトImage J¹⁶⁾ を用いて葉面積を測定した。

葉状体を材料とした温度別培養実験では、温度10℃、15℃、20℃、25℃および30℃に設定した光照射用恒温庫 (Panasonic MIR-153・MIR-154) を用い、光量を60μmol photons m⁻² s⁻¹、10L:14Dの短日条件とした。予備培養後の葉長約6cmの葉状体を5個体 (Fig. 2)、培養液とともに1Lの培養ビンに入れて各温度区に設置し、通気して培養した。培養液は予備培養と同じ1/2濃度のSWM-III改変培地とし、3日間隔で交換した。生長測定については、デジタルカメラ (PENTAX Optio W90) で撮影した葉状体の画像をパソコンに取り込み、前述と同様の方法で葉面積を測定した。

カイガラアマノリ単列藻体および葉状体における生長は、次式により生長倍率および相対生長率を求めて評価した。

生長倍率 (倍) = 測定日の葉状体面積 / 実験開始日の葉状体面積

相対生長率 (% day⁻¹) = $\log e$ [最終日の葉面積 / 開始日の葉面積] / 培養日数 × 100

各温度間の相対生長率については、KyPlot 5.0 (カイエンス) を用いてTukey-Kramerの多重比較検定を行った。

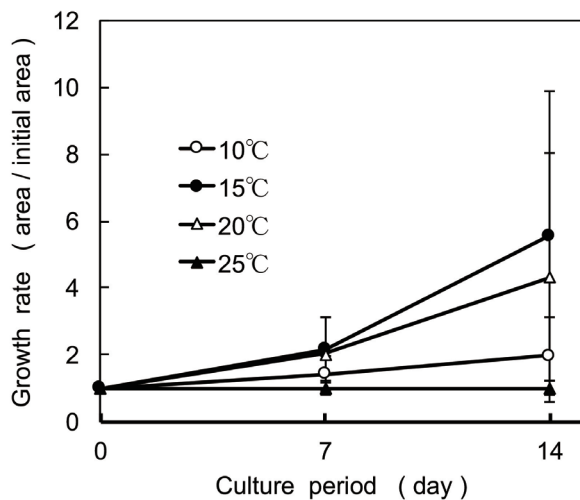


Fig. 3. Changes of growth rates (area / initial area) of uniseriate thalli which used two-cell stage developed from a spherical cell of *Pyropia tenuipedalis* at 10℃, 15℃, 20℃ and 25℃ for 14 days in culture. The culture experiments were carried out at 40 μmol photons m⁻² s⁻¹ under 10:14 light:dark cycle. Vertical bars indicate standard deviations (n = 20).

結 果

単列藻体の生育適温

温度10℃から25℃までの5℃間隔における単列藻体の葉面積の14日間の生長倍率の変化をFig. 3に示す。培養開始時の2細胞に分裂した単列藻体の葉面積は1420.62 ± 324.93 μm²、葉長は67.87 ± 12.89 μm (平均値 ± 標準偏差, n=80) であった。15℃区の生長倍率は、培養7日目に2.16 ± 0.94倍 (n=20)、培養14日目に5.57 ± 4.33倍、20℃区では培養7日目に2.03 ± 1.07倍、培養14日目に4.32 ± 3.73倍と高い値を示した。また、10℃区では培養7日目に1.43 ± 0.55倍、培養14日目に1.97 ± 1.16倍とわずかに増加した。一方、25℃区では培養7日目に1.01 ± 0.18倍、培養14日目に1.00 ± 0.21倍とほとんど増加がみられなかった。25℃区では既存の報告¹¹⁾と同様に藻体の脱色や多層化などの形態異常が観察された。

各温度における培養14日目の単列藻体の相対生長率をFig. 4に示す。培養14日目の相対生長率は15℃区が10.14 ± 5.83 % day⁻¹、20℃区が8.04 ± 6.07 % day⁻¹と高い値を示し、次いで、10℃区が3.93 ± 3.54 % day⁻¹を示した。一方、25℃区は0.17 ± 1.64 % day⁻¹であった。各温度間の相対生長率については、10℃区と15℃区、10℃区と20℃区、15℃区と25℃区および20℃区と25℃区との間でそれぞれ有意な差が認められた (Tukey-Kramerの多重比較検定, p<0.05)。よって、単列藻体における生育適温は15℃および20℃であった。

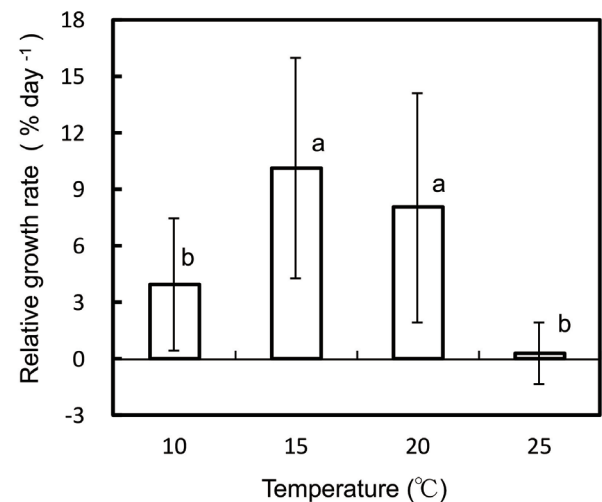


Fig. 4. Relative growth rate of uniseriate thalli of *Pyropia tenuipedalis* under 10℃, 15℃, 20℃ and 25℃ for 14 days in culture. Vertical bars indicate standard deviations (n = 20). Different letters on bars indicate significantly different according to Tukey-Kramer's multiple comparison (p < 0.05).

葉状体の生育適温

温度10℃から30℃までの5℃間隔における葉状体の葉面積の14日間の生長倍率の変化をFig. 5に示す。培養開始時の葉状体の葉面積は $2.24 \pm 0.83 \text{ cm}^2$ 、葉長は $5.80 \pm 1.14 \text{ cm}$ (平均値 \pm 標準偏差, $n=20$)であった。15℃区の生長倍率は、培養7日目に 3.21 ± 0.11 倍 ($n=5$)、培養14日目に 8.86 ± 0.88 倍と高い値を示した。次いで10℃区および20℃区の生長倍率が高く、10℃区では培養7日目に 2.25 ± 0.55 倍、培養14日目に 5.54 ± 1.16 倍を示し、20℃区では培養7日目に 2.26 ± 0.23 倍、培養14日目に 3.80 ± 0.71 倍を示した。また、25℃区では培養7日目に 1.20 ± 0.08 倍、培養14日目に 1.48 ± 0.25 倍とわずかな増加にとどまった。一方、30℃区では培養7日目以降に全ての葉状体で脱色が認められたが、崩壊は認められず、生長倍率が培養7日目で 0.76 ± 0.09 倍、14日目で 0.53 ± 0.05 倍と葉面積は培養開始時よりも縮小した。

各温度における培養14日目の葉状体の相対生長率をFig. 6に示す。培養14日目の相対生長率は、15℃区で $15.52 \pm 0.75 \text{ \% day}^{-1}$ と最も高い値を示した。次いで、10℃区の $12.49 \pm 1.14 \text{ \% day}^{-1}$ 、20℃区の $9.79 \pm 1.46 \text{ \% day}^{-1}$ 、25℃区の $2.84 \pm 1.21 \text{ \% day}^{-1}$ であった。一方、30℃区では前述したように全ての葉状体で脱色し、培養14日目には $-4.55 \pm 0.66 \text{ \% day}^{-1}$ と生長が認められなかった。各温度区間の相対生長率については、いずれも有意な差が認められた (Tukey-Kramerの多重比較検定, $p < 0.05$)。よって、葉状体における生育適温は15℃であった。

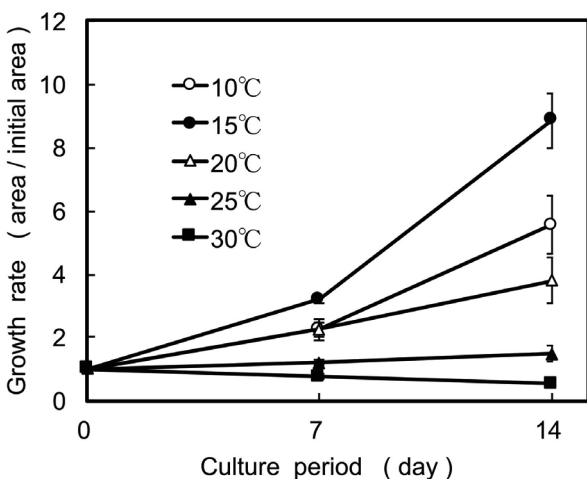


Fig. 5. Changes of growth rates (area / initial area) of foliose thalli which used young blade with the length about 6 cm of *Pyropia tenuipedalis* at 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C for 14 days in culture. The culture experiments were carried out at $60 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ under 10:14 light:dark cycle. Vertical bars indicate standard deviations ($n = 5$).

考 察

本研究では温度に着目し、カイガラアマノリを球形細胞から2細胞に分裂した単列藻体の生長と全長約6cmの葉状体の生長の2つの生育段階に分けて、それぞれの生育適温を培養実験により確かめた。その結果、カイガラアマノリの単列藻体の生育適温は15℃および20℃であった。また、葉状体の生育適温は15℃であった。阿部ら¹¹⁾は、本種の単列藻体が15℃で最も早く、20℃で最も多く形成され、葉状体が15℃で最も速く、かつ多く形成されたと報告した。このことから、単列藻体では温度15℃および20℃、葉状体では温度15℃の条件は、それぞれの形態形成を促進するとともに、生長においても好適であることが明らかとなった。

カイガラアマノリの球形細胞から葉状体にかけての生長については、Notoya et al.⁵⁾ および能登谷ら⁶⁾は、温度15℃で球形細胞の確認から約14週間後に葉長約27cmと大きく生長し、温度20℃では約20週間後に葉長約11cmに生長したが、温度10℃では約20週間後に葉長約1cmとわずかしが生長しなかったと報告した。これらの報告^{5, 6)}と本研究による葉状体の生長は、温度15℃で最も良好であることについて一致した。しかし、本研究では15℃の最適温度に次いで、20℃よりも10℃で葉状体の生長が良好であったが、前述の報告^{5, 6)}では10℃よりも20℃で生長が良好であった。このような違いは、培養開始時に用いた材料が前述の報告^{5, 6)}では球形細胞、本研究では葉長約6cmの葉状体と生育

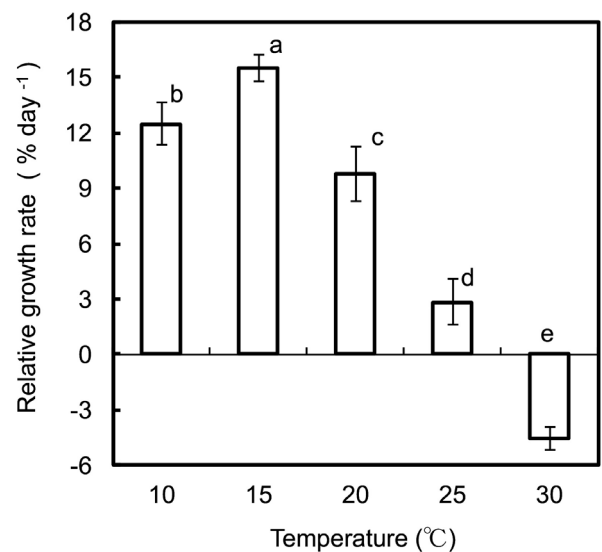


Fig. 6. Relative growth rate of foliose thalli of *Pyropia tenuipedalis* under 10°C, 15°C, 20°C, 25°C and 30°C for 14 days in culture. Vertical bars indicate standard deviations ($n = 5$). Different letters on bars indicate significantly different according to Tukey-Kramer's multiple comparison ($p < 0.05$).

段階が異なるためと推察された。

本研究によるカイガラアマノリの生育温度特性については、単列藻体が15℃および20℃で生育適温、葉状体が15℃で生育適温を示し、次いで10℃でも葉状体の生長が良好であった。一方、カイガラアマノリが自生する山口県山口湾では水温約15℃から10℃に低下する12月上旬に葉長数cmの葉状体が観察され、10℃程度の2月から3月には最大30cm程度までの葉状体が観察されている⁹⁾。このように、本研究で明らかとなった単列藻体と葉状体の生育温度特性の差異は、自生地での秋から冬にかけての海水温低下に伴う葉状体の伸長を支持するものと考えられた。すなわち、単列藻体と葉状体の生育温度特性は、海域における秋から冬にかけての水温変化に適応していることが示唆された。

これまで山口県で行われてきた干潟域でのカイガラアマノリの養殖の不作の要因については、11月～12月に水温が急激に下降したこと⁹⁾と12月～翌年2月の最低水温が0.5～2.5℃まで低下したこと⁸⁾などが挙げられている。これらのことから、今後は温度10℃よりも低い温度条件や急激な温度変化などの影響について培養実験を行う必要がある。

干潟域での本種の養殖生産は、前述したように環境変動の影響により不安定なことから、安定生産を目的とする陸上養殖による技術開発に関する研究が2015年度から始まった¹⁰⁾。陸上養殖では、施設内で水槽等を用いると環境要因の制御が可能となるため、本種の生育段階ごとの藻体をそれぞれの生育に最適な条件下で培養することで、効率的な生産が期待できる。温度条件の面では、阿部ら¹¹⁾に基づいて種苗に相当する糸状体の生産と糸状体上での球形細胞の形成促進を温度20℃、その後の生産については、本研究で明らかにしたように球形細胞から単列藻体までを温度15℃あるいは20℃、単列藻体から葉状体までを温度15℃で管理することによって大量生産が可能となることが想定される。

以上、本研究によるカイガラアマノリの単列藻体と葉状体の生育適温は、本種の増養殖技術開発の温度管理の面から重要な知見となる。一方、葉状体は海水75%区（塩分約24）と海水100%区（塩分約32）で生長が良好である培養結果¹²⁾や干潟域での養殖試験では栄養塩の減少が不作を招く⁸⁾ことが報告された。今後は、塩分や栄養塩が単列藻体や葉状体の生長に及ぼす影響を考慮し、陸上養殖の大量生産に用いられる培養液についても検討する必要がある。

謝 辞

本研究の一部は、農林水産省水産技術会議「農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業（平成27年度～29年度）」による成果の一部である。関係者各位に感謝申し上げる。

文 献

- 1) 能登谷正浩, 菊地則雄: *Porphyra tenuipedalis* Miura (カイガラアマノリ). 堀輝三 (編), 藻類の生活史集成. 内田老鶴圃, 東京, 214-215 (1993)
- 2) 岸岡正伸, 松野進, 多賀茂: カイガラアマノリ分布調査. 平成13年度山口県水産研究センター事業報告, 145-149 (2003)
- 3) 宮後富博: 藻類優良品種養殖振興試験事業 (山口湾自生のカイガラアマノリについて-I). 平成11年度山口県水産研究センター事業報告, 276-277 (2001)
- 4) 阿部真比古, 村瀬昇, 畑間俊弘, 鹿野陽介, 金井大成: カイガラアマノリの新産地～山口県厚東川河口域～. 水産大学校研究報告, **63**, 244-248 (2015)
- 5) Notoya M, Kikuchi N, Matsuo M, Aruga Y and Miura A: Culture studies of four species of *Porphyra* (Rhodophyta) from Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 431-436 (1993)
- 6) 能登谷正浩, 菊地則雄, 有賀祐勝, 三浦昭雄: 紅藻カイガラアマノリの室内培養における生活史. *La mer*, **31**, 125-130 (1993)
- 7) 畑間俊弘, 金井大成, 松尾圭司, 原川泰弘, 鹿野陽介, 茅野昌大: カイガラアマノリ増養殖技術開発試験事業. 平成22年度山口県水産研究センター事業報告, 45-46 (2012)
- 8) 畑間俊弘, 和西昭仁, 金井大成, 小川強, 原川泰弘: カイガラアマノリ増養殖技術開発試験事業 (1) プレート粗放管理試験. 平成23・24年度山口県水産研究センター事業報告, 52-53 (2014)
- 9) 阿部真比古, 村瀬昇, 畑間俊弘, 鹿野陽介, 金井大成: 山口県山口湾に自生するカイガラアマノリ *Pyropia tenuipedalis* (Miura) Kikuchi et Miyataの生育環境. 水産大学校研究報告, **65**, 19-29 (2017)
- 10) 農林水産省: 平成27年度 農林水産業科学技術研究推進事業「幻の赤海苔カイガラアマノリの農水工連携による陸上養殖技術の開発」.

http://www.affrc.maff.go.jp/docs/gaiyou/pdf/pdf/27029c_gaiyou.pdf (閲覧日2017年10月5日)
(2015)

- 11) 阿部真比古, 村瀬昇, 中江美里, 中山冬麻, 中川昌大, 鹿野陽介: 紅藻カイガラアマノリの糸状体の生長, 球形細胞, 単列藻体および初期の葉状体形成における温度特性. 水産大学校研究報告, **66**, 81-88 (2018)
- 12) 中山冬麻, 阿部真比古, 村瀬昇, 鹿野陽介: 紅藻カイガラアマノリおよびスサビノリ葉状体の生長に及ぼす塩分の影響. 水産増殖, **65**, 321-330 (2017)
- 13) 尾形英二: 新しい海藻培養液SWM-IIIについて. 藻類, **18**, 171-173 (1970)
- 14) Fujiyoshi E and Kikuchi N: Growth of excised pieces containing elongated denticles from the lower marginal parts of *Porphyra tanegashimensis* and *P. haitanensis* gametophytes. *Bull Fish Res Agen*, **16**, 9-13 (2006)
- 15) 藤吉栄次, 小林正裕, 玉城泉也: 培養条件について. 藤吉栄次, 玉城泉也, 小林正裕, 有瀧真人 (編), アマノリ類養殖品種の特性. 独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所, 長崎, 24-28 (2014)
- 16) Rasband WS: Image J. <https://imagej.nih.gov/ij/index.html> (accessed 2017-10-5) (2008)