

## 紅藻マルバアマノリの室内培養\*

松尾雅志\*\*・能登谷正浩\*\*\*・有賀祐勝\*\*\*

### Life history of *Porphyra suborbiculata* Kjellman (Bangiales, Rhodophyta) in culture\*

Masashi MATSUO\*\*, Masahiro NOTOYA\*\*\* and Yusho ARUGA\*\*\*

**Abstract:** Life history of *Porphyra suborbiculata* Kjellman was completed in culture. It was shown from the culture study that this species has the "*P. lacerata* type" life history. Growth and reproduction were observed under various photon flux densities ( $10-80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), temperatures ( $10-30^\circ\text{C}$ ) and photoperiods (14L:10D, 10L:14D). The optimum growth of conchocelis filaments occurred at  $15-25^\circ\text{C}$ . The conchocelis filament produced conchosporangia at 20 and  $25^\circ\text{C}$ . Monospores were liberated from the foliose thallus 2-3 weeks after conchospore germination at  $15-25^\circ\text{C}$  under 10L:14D. Carpospores were liberated from foliose thallus 7-11 weeks after conchospore germination at  $15-20^\circ\text{C}$  under 10L:14D.

#### 1. 緒言

日本産アマノリ属 (*Porphyra*) 植物はこれまでに28種報告されており (吉田ら 1990), そのうち室内培養によって生活史が明らかにされているのは8種のみである。それらの生活史は3型に分けられ, 多くの種はヤブレアマノリ型 (*P. lacerata* type) に含まれることを前報 (NOTOYA *et al.*, 1993) で報告した。マルバアマノリ (*P. suborbiculata*) については, 黒木 (1953) が果胞子の発芽および糸状体の生長について観察報告しているが, 室内培養によって生活史を詳細に観察した報告はまだない。本研究では, 神奈川県藤沢市江ノ島で得られたマルバアマノリを培養し, その生活史を観察すると共に糸状体及び葉状体の生長と成熟に及ぼす温度, 光量, 光周期の影響を調べたので報告する。

#### 2. 材料と方法

材料のマルバアマノリ葉状体 (Fig. 1A) は, 1990年12月16日に神奈川県藤沢市江ノ島で採集した。成熟した葉状体の果胞子形成部分約  $1 \times 1\text{cm}$  を切り取り, 滅菌海水中で葉片の表面を筆を用いて良く洗浄した後, シャーレに滅菌海水と共にに入れて室温に放置し, 果胞子の放出を待った。数時間後に放出された果胞子をパストゥールピペットで吸い取り, 滅菌海水の入ったシャーレに移す操作を数回繰り返すことによって果胞子を洗浄した。最後に, シャーレにスライドグラスを敷きつめ, 滅菌海水を入れた中に果胞子液を滴下し,  $20^\circ\text{C}$ ,  $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 12L:12Dの下に静置して発芽を待った。このようにして得られた無基質糸状体を, ワーリングブレンダーで長さ約  $0.2 \text{mm}$  に切断した。この糸状体の懸濁液をスライドグラスを敷き滅菌海水で満たしたシャーレに滴下し,  $20^\circ\text{C}$ ,  $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 12L:12Dの下に約12時間静置して, 糸状体がスライドグラスに付着するのを待った。この糸状体が付着したスライドグラスを  $50\text{ml}$  容ねじ口瓶に入れて培養を開始した。培養は, 温度10, 15, 20, 25,  $30^\circ\text{C}$ , 光量 10, 20, 40,  $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ , 光周期 14L:10D (長日) と 10L:14D (短日) を組み合わせた合計 40 条件下で行った。観察は1週間ごとに行い, 糸状体コロニーを任意に 10 個体選びその長径を測定した。また, 殻胞子嚢形成の有無についても同時に観察した。

\* 1993年12月24日受理 Received December 24, 1993

\*\* 度会養護学校尾鷲分校, 〒519-36三重県尾鷲市中村町4-58

Watarai School for Handicapped Children Owase Branch, Nakamura-cho 4-58, Owase, Mie Prefecture, 519-36 Japan

\*\*\* 東京水産大学資源育成学科, 〒108東京都港区港南4-5-7

Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan

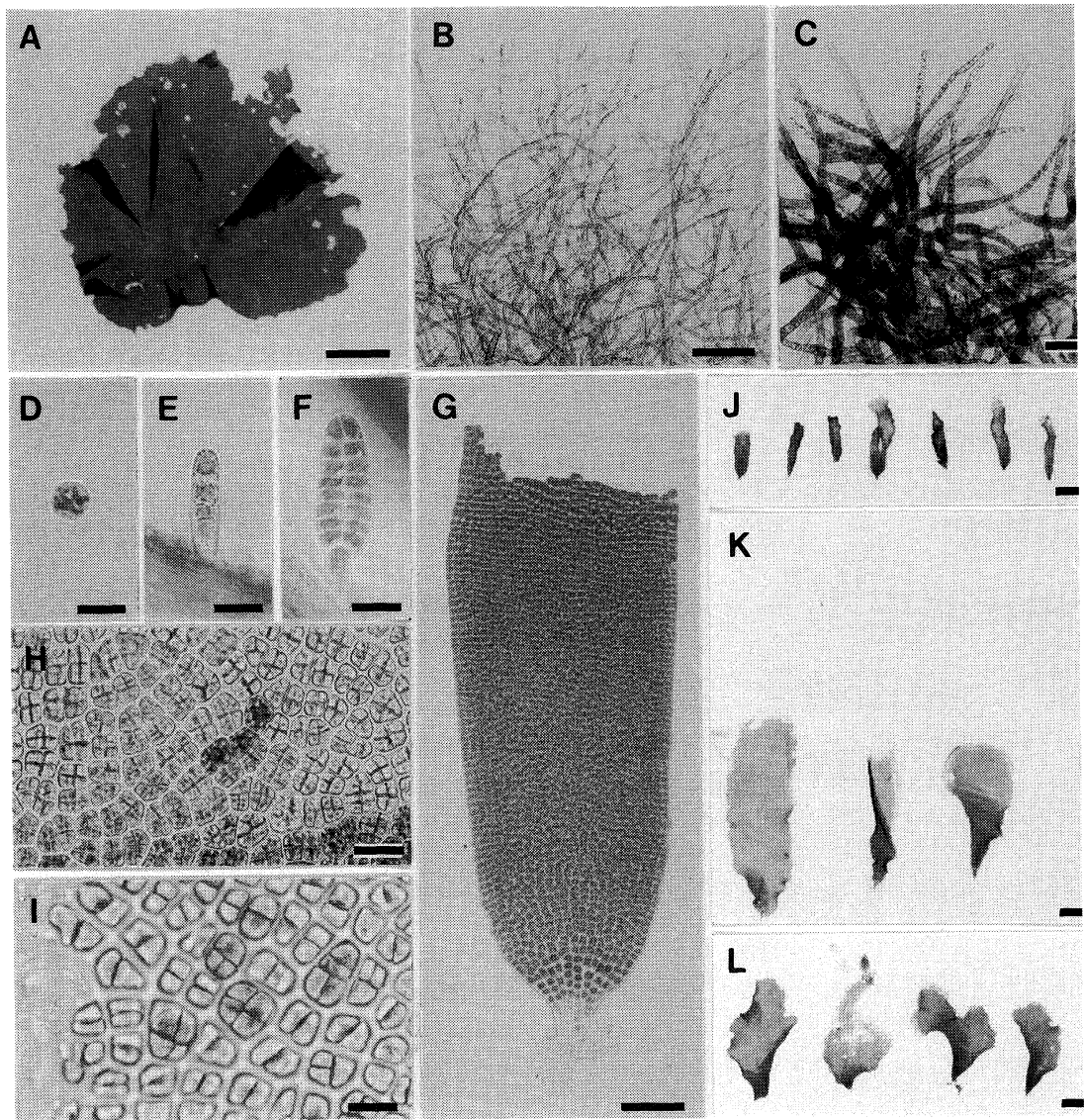


Fig. 1. *Porphyra suborbiculata* Kjellman in culture. (A) Mature foliose thallus collected at Enoshima, Fujisawa, Kanagawa Prefecture on December 16, 1990. (B) Free-living conchocelis colony of five weeks old at 15°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (14L:10D). (C) Conchocelis colony of five weeks old at 20°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (D) Conchospore liberated from a cultured conchosporangium. (E) Conchospore germling of three days old at 20°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (F) Conchospore germling of a week old at 20°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (G) Juvenile foliose thallus of two weeks old, liberating monospores from the tip, at 25°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (H) Surface view of antheridia. (I) Surface view of carposporangia. (J) Immature foliose thalli of 18 weeks old at 10°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (K) Mature foliose thalli of 13 weeks old at 15°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (L) Mature foliose thalli of 13 weeks old at 20°C and 40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  (10L:14D). (Scale bar: 1 cm in A and J-L; 100  $\mu\text{m}$  in B, C and G; 20  $\mu\text{m}$  in D-F, H and I).

葉状体の生長と成熟の観察には、成熟した殻孢子囊枝をもつ糸状体をクレモナ糸と共に枝付きフラスコに入れ、通気培養することによって殻孢子を付着させたクレモナ糸を得て、これを 300ml 容枝付きフラスコに入れ、次のような各条件下で培養した。培養は、温度を 10, 15, 20, 25°C の 4 条件とし、光量および光周期はすべてそれぞれ約  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  および 10L : 14D (短日) の下で行った。1 週間ごとに大きな葉状体から順に 10 個体を選んで観察と測定を行ない、同時に単孢子放出と精子及び果孢子囊の形成の有無についても観察した。

培養にはすべて Grund 改変培地 (McLACHLAN, 1973) を用い、1 週間ごとの観察時に交換した。

### 3. 結果と考察

#### 3. 1. 生活史

糸状体は、10-25°C の下では太さ約  $5 \mu\text{m}$  で、不規則に分枝しながら生長してコロニーを形成した (Fig. 1B)。20°C の短日下では、5 週間後にコロニーの直径が約 1mm 達し、太さ 12-15  $\mu\text{m}$  の殻孢子囊枝の形成が認められた (Fig. 1C)。この殻孢子囊枝から放出された殻孢子は赤褐色で、直径は約  $15 \mu\text{m}$  であった (Fig. 1D)。殻孢子は直立型の発生を示し、20°C の下では 3 日後に 3-4 細胞 (Fig. 1E)、1 週間後には 2 列細胞の発芽体となった (Fig. 1F)。15-25°C の下では、発芽体が葉長 1-2 mm に達する頃から、葉状体先端部の栄養細胞が単孢子として 1 個ずつ分離して放出されるのが認められた (Fig. 1G)。これらの単孢子は、殻孢子と同様に発芽して葉状体となった。

葉長 1.2-1.3 mm 以上に生長した発芽体では、基部近くの縁辺に 1-3 細胞からなる鋸歯状の突起が形成された。この鋸歯の形成は、10-20°C のいずれの温度でも、これより小さな発芽体には認められなかった (Fig. 2)。

葉状体縁辺に認められる鋸歯は、分類学上極めて重要な形質とされているが (殖田, 1932)、日本産の種では、タネガシマアマノリ (*P. tanegashimensis* Shinmura)、クロノリ (*P. okamurae* Ueda)、ツクシアマノリ (*P. crispata* Kjellman)、オニアマノリ (*P. dentata* Kjellman) と本種に認められている (MIURA, 1988)。鋸歯の形成時期については、これまでタネガシマアマノリでは葉長 1-2.5mm 以上 (右田・伊藤, 1987)、クロノリと本種ではそれぞれ葉長  $500 \mu\text{m}$  と 1-1.5mm 以上 (福原, 1968) になった段階とされ、成葉の上部には少ない傾向があると報告されている。本研究の培養藻体でも鋸歯形成の時期および部位はこれまでの報告とほぼ一

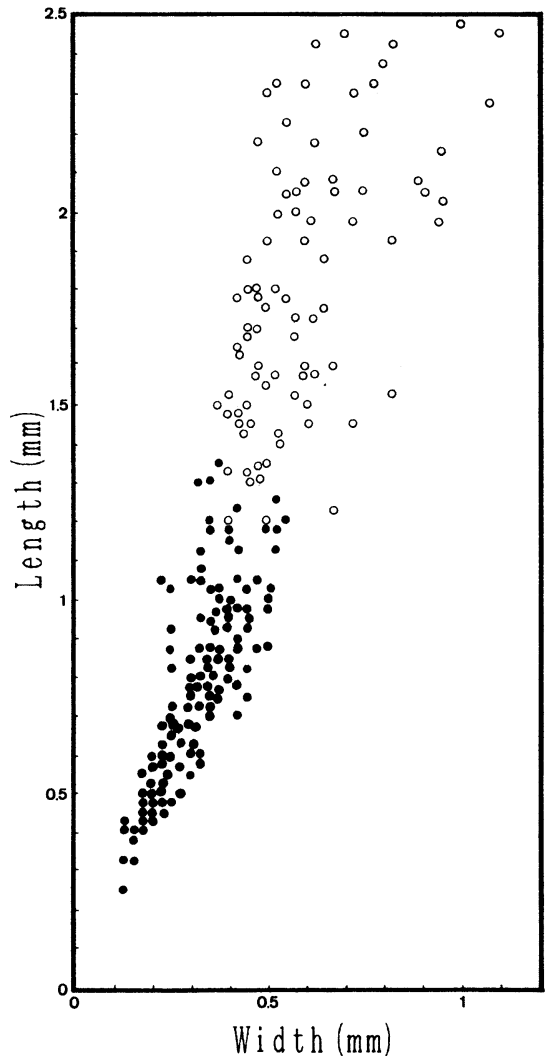


Fig. 2. Relationship between the length and width of foliose thalli of *Porphyra suborbiculata* Kjellman in culture. ○, denticulate margin; ●, entire margin.

致した。また、鋸歯の有無による種の同定には、少なくとも葉長 1mm 以上の藻体が必要であることが分かった。

培養 4 週間後、15°C の下では葉長約 2.5cm に達して、精子囊の形成が認められ (Fig. 1H)、7 週間後には葉長 5 cm となり、果孢子囊の形成が認められた (Fig. 1I)。精子囊と果孢子囊は、それぞれ斑状に混在して形成され、葉状体先端縁辺部から始まり、成熟が進むと基部付近の縁辺にまで達した。

精子囊の分裂表式は  $64(a/4, b/4, c/4)$ 、果孢子囊の

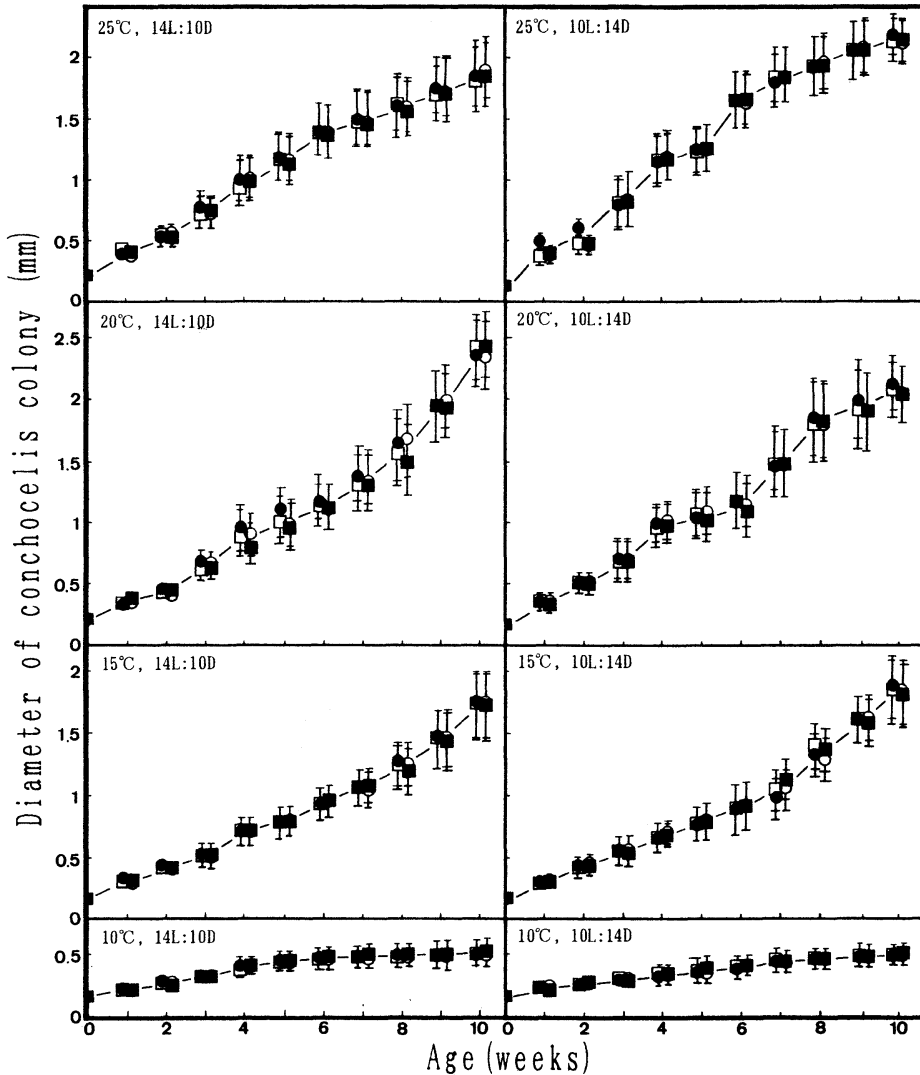


Fig. 3. Growth of conchocelis in *Porphyra suborbiculata* Kjellman under different temperatures, photon flux densities and daylengths. Solid square,  $10 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; open square,  $20 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; solid circle,  $40 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ; open circle,  $80 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Vertical bar, standard deviation.

それは 32 (a/2, b/4, c/4) で, 殖田 (1932), 福原 (1968), MIURA (1988) の結果と一致した。

放出された果胞子は, 赤褐色で直径約  $15 \mu \text{m}$  であった。果胞子は, 基質に付着後発芽して, 糸状体に生長した。

以上の結果から, 本種の生活史はヤブレアマノリ型 (*P. lacerata* type) であり, アサクサノリ (IWASAKI, 1961; 鬼頭, 1978), スサビノリ (鬼頭, 1978), タネガシマアマノリ (右田・伊藤, 1987), ヤブレアマノリ

(飯間・右田, 1990; 能登谷ら, 1992a), ウタスツノリ (能登谷ら, 1992b) と基本的に同じであることが分かった。

### 3. 2. 糸状体及び葉状体の生長と成熟に及ぼす温度, 光量及び光周期の影響

糸状体は温度  $10\text{--}25^\circ\text{C}$ , 光量  $10\text{--}80 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の下では長日, 短日両条件下で共に生長が見られたが (Fig. 3),  $30^\circ\text{C}$  ではいずれも培養 1 週間以内にすべて枯死した。糸状体コロニーの生長は  $20^\circ\text{C}$  で最も速く,

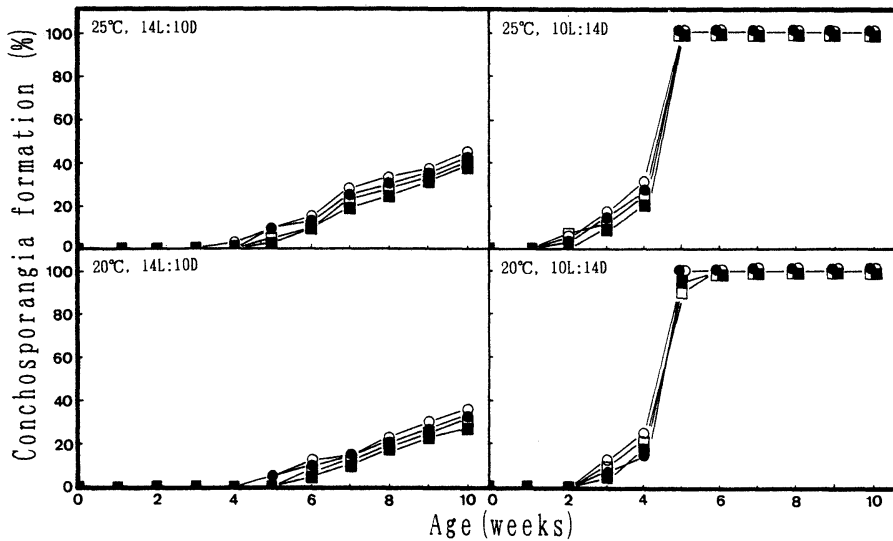


Fig. 4. Formation of conchosporangial branch in *Porphyra suborbiculata* Kjellman under different temperatures, photon flux densities and daylengths. Solid square,  $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; open square,  $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; solid circle,  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ; open circle,  $80 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ .

10週間の培養で長径約2.5mmとなり、次いで15°Cおよび25°Cでは約2.0mmとなった。しかし、10°Cではほとんど生長せず約0.5mmにとどまった。

糸状体コロニーの生長については、これまで著者らによって培養されたオニアマノリ(能登谷ら, 1991), ヤブレアマノリ(能登谷ら, 1992a), ウタスツノリ(能登谷ら, 1992b), カイガラアマノリ(能登谷ら, 1993)で報告されており, 20°C,  $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の長日下では, 培養10週目にコロニーの直径はいずれも4.0-4.5mmに達する。従って, これらの種に比べて本種の糸状体の生長は明らかに遅いことが分かる。また, このことについては黒木・秋山(1966)も, アサクサノリ, マルバアサクサノリ(*P. kuniedae* Kurogi), スサビノリ, コスジノリ(*P. angusta* Okamura et Ueda), ウップルイノリなどと比較して遅いことを指摘している。

各温度下における糸状体の生長に関しては, いずれの光量および光周期の下でもほとんど差異は認められなかった(Fig. 3)。

殻胞子嚢の形成は, 温度20および25°Cの下では認められたが, 10および15°Cの下では認められなかった。光周期に関しては, 短日下の方が殻胞子嚢の形成は早く始まり, 25°Cの下では培養2週間目に, 20°Cの下では3週間目に見られた。また, これらの条件下では培養5

週目および6週目までに, 全ての糸状体コロニーに殻胞子嚢が認められたが, 長日下では殻胞子嚢形成開始時期は遅く, 培養4週目および5週目に始まり, 形成率は10週間の培養でも50%以下にとどまった。いずれの温度・光周期下とも, 高光量下ほど早く殻胞子嚢形成率が上昇する傾向が認められた(Fig. 4)。

本研究の培養条件のうち, 30°Cの下では糸状体は全て枯死した。また, 15°Cの下では長日及び短日いずれも殻胞子嚢の形成は認められなかった。しかし, 黒木・秋山(1966)の観察によれば, 貝殻の中に成育した糸状体は30°Cの下でも2-5%が生き残り, 15°Cの下でも殻胞子嚢が形成される。これらの差異は, 貝殻糸状体と無基質糸状体との違いによるものと推察される。

葉状体の生長および成熟は, Fig. 5に見られるように, 15°Cの下で最も速く, 培養2週間目には葉長約2mmに達して単胞子が形成され, 5週目には葉長約2.5cmに達して精子嚢の形成が, 7週目には約5cmとなって果胞子嚢の形成が認められた。それ以降は, 葉状体上部縁辺からの単胞子および果胞子の放出によって, 葉長は徐々に短くなった。20°Cの下では, 15°Cの下に比べて2-4週間遅れて成熟が認められた。25°Cの下では, 殻胞子の発芽体は他の温度の下に比べて非常に少なかったが, 発芽して生長した葉状体では培養2週目

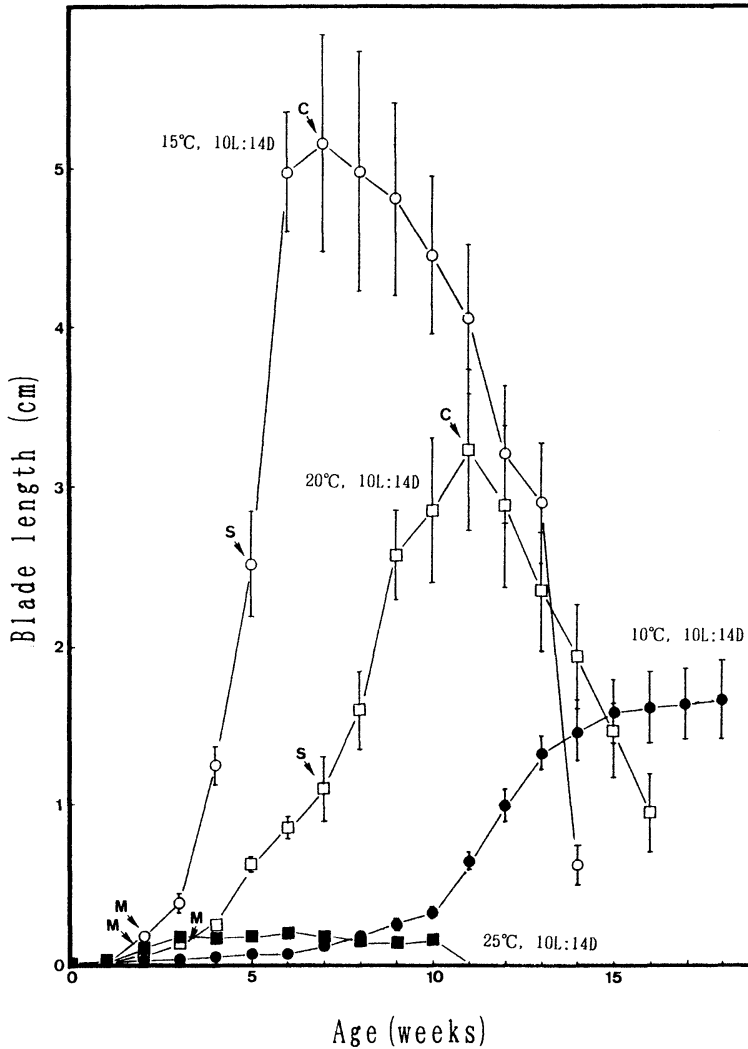


Fig. 5. Growth of foliose thalli in *Porphyra suborbiculata* Kjellman under different temperatures. Solid circle, 10°C; open circle, 15°C; open square, 20°C; solid square, 25°C. M, beginning of the liberation of monospores; S, beginning of the formation of antheridia; C, beginning of the liberation of carpospores. Vertical bar, standard deviation.

から単胞子の放出が認められた。しかし、25°Cの下では、葉長2mm以上に生長した個体はなく、4週目以降枯死する葉状体が見られ始め、培養11週目には全ての葉状体が成熟することなく枯死した。10°Cの下では、培養10週目までは15°Cや20°Cの下に比べて葉状体の生長は極端に遅く、18週間後でも葉長約1.5cmと小さく、単胞子の放出や精子嚢および果胞子嚢の形成は見られなかった。

培養によって得られた葉状体は、天然の葉状体に比べ

て細長く、また、葉長、葉幅ともに小さい藻体であった。10°Cで培養された葉状体は、15°Cまたは20°Cの下での葉状体に比べて基部近くの縁辺が著しく波打ち、細長くなった (Fig. 1J-L)。

本研究の培養実験で明らかになった、葉状体の生長に伴う単胞子および果胞子の放出時期を Fig. 6 に示す。10°Cの下では、培養を行なった18週間内には成熟は認められず、単胞子および果胞子の放出は見られなかった。15-25°Cの下では、培養2-3週目頃から単胞子の放出が

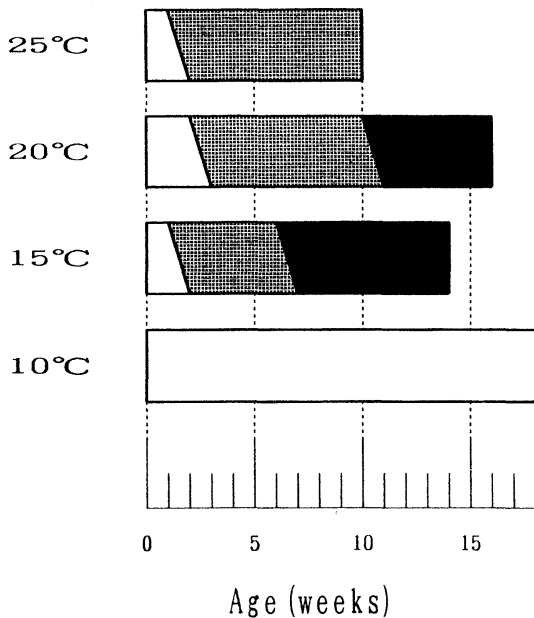


Fig. 6. Liberation of monospores and carpospores in relation to the age of cultured foliose thalli of *Porphyra suborbiculata* Kjellman at various temperatures under  $40 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (14L:10D). Open space, neither monospores nor carpospores liberated; dotted space, monospores liberated; solid space, both monospores and carpospores liberated.

認められた。15と20°Cの下では、それぞれ7週目と11週目から果胞子の放出が始まったが、単胞子の放出も引き続き見られた。しかし、25°Cの下では果胞子の放出は認められなかった。

## 文 献

- 福原英司 (1968) : 北海道近海産アマノリ属の分類学的ならびに生態学的研究. 北水研研究報告, **34** : 40-99.
- 飯間雅文・右田清治 (1990) : ヤブレアマノリの室内培養. 長崎大学水産学部研究報告, **68** : 13-20.
- IWASAKI, H. (1961) : The life-cycle of *Porphyra tenera* in vitro. Biol. Bull. (Woods Hole), **121** : 173-187.
- 鬼頭鈞 (1978) : アマノリ属植物の細胞学的研究. 東北水研研究報告, **39** : 29-84.
- 黒木宗尚 (1953) : アマノリ類の生活史の研究. 第1報 果胞子の発芽と生長. 東北水研研究報告, **2** : 67-103.
- 黒木宗尚・秋山和夫 (1966) : 数種のアマノリの糸状体の生長・成熟と水温. 東北水研研究報告, **26** : 7-89.
- McLACHLAN, J. (1973) : Growth media - marine. pp. 25-51. In J. R. Stein (ed.), Handbook of Phycological Methods. Cambridge Univ. Press, New York.
- 右田清治・伊藤龍星 (1987) : 培養によるタネガシマアマノリの生活史. 長崎大学水産学部研究報告, **61** : 7-14.
- MIURA, A. (1988) : Taxonomic studies of *Porphyra* species cultivated in Japan, referring to their transition to the cultivated variety. J. Tokyo Univ. Fish., **75** : 311-325.
- 能登谷正浩・菊地則雄・有賀祐勝・三浦昭雄 (1991) : 紅藻オニアマノリの室内培養. 平成3年度日本水産学会秋季大会講演要旨集. p. 166.
- 能登谷正浩・菊地則雄・有賀祐勝・三浦昭雄 (1992a) : 江ノ島産ヤブレアマノリの生長と成熟に及ぼす温度, 照度, 日長の影響. 藻類, **40** : 94.
- 能登谷正浩・菊地則雄・有賀祐勝・三浦昭雄 (1992b) : 紅藻ウタスツノリの培養. 藻類, **40** : 273-278.
- NOTOYA, M., N. KIKUCHI, M. MASTUO, Y. ARUGA and A. MIURA (1993) : Culture studies of four species of *Porphyra* (Rhodophyta) from Japan. Nippon Suisan Gakkaishi, **59** : 431-436.
- 能登谷正浩・菊地則雄・有賀祐勝・三浦昭雄 (1993) : 紅藻カイガラアマノリの室内培養. La mer, **31** : 125-130.
- 殖田三郎 (1932) : 日本産あまのり属の分類学的研究. 水産講習所研究報告, **28** : 1-45.
- 吉田忠生・中嶋泰・田中由和 (1990) : 日本産海藻目録 (1990年改訂版). 藻類, **38** : 269-320.