

アオノリ類の生理, 生態から見た養殖技術の検証 (総説)

團 昭紀^{*1}Review of the Cultivation Technologies Judging from Physiological and Ecological Studies on *Enteromorpha*Akinori DAN^{*1}キーワード：アオノリ, *Enteromorpha prolifera*, *Enteromorpha linza*, 人工採苗, 生理, 生態

徳島県水産試験場でスジアオノリの研究が始められてから20年ほどになる。その成果は、人工採苗や種網の冷蔵保存技術等として現場に活用されている。近年、アオノリ、アオサ、ヒトエグサなどの緑藻の需要が高まり、生産量も増えてきているが、養殖漁業者も世代交代が進む中、人工採苗等の技術も、その原理をよく理解しないまま作業を行う状況が見受けられる。このため、養殖技術について、再度、アオノリの生理, 生態面から検証し、生産現場やアオノリ研究者のお役に立てていただきたいと思い筆をとった。

1. 成熟

スジアオノリを観察していると、先端部が白化している藻体を見ることがある。この部分を顕微鏡で観察すると細胞壁だけになった空の細胞であることが分かる。白化部分に近い細胞は、やや茶色を呈しており、顕微鏡の強い光を当てると、それが刺激となって細胞の中から無数の小さな胞子が放出されるのを見ることができる。

スジアオノリの栄養細胞は直接、生殖細胞嚢へと分化し、遊走細胞（2～4本の鞭毛を持っている生殖細胞）が放出される。生殖細胞へ分化する現象は成熟と呼ばれているが、ウスバアオノリなど他の種類のアオノリやアオサ類でも同様の現象が見られる。図1はスジアオノリを

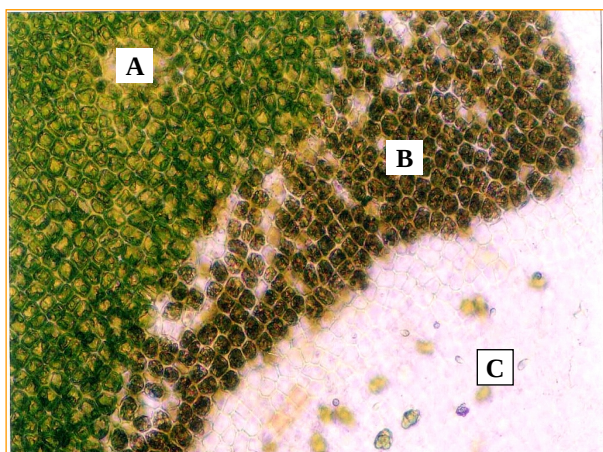


図1. 成熟誘導後のスジアオノリの組織細胞。栄養細胞, 成熟細胞, 遊走細胞放出後の細胞の境界は色調により明瞭に識別できる。A, 緑色の栄養細胞; B, 生殖細胞を形成している茶色の細胞; C, 遊走細胞を放出した白色の空の細胞。

小さな組織片に細断することで、人為的に成熟誘導を行ったものである。Aは未分化の栄養細胞で緑色をしている。Bは生殖細胞嚢に分化した組織でカロチンを多く含むため茶色になっている。Cは遊走細胞を放出した後の空の細胞であり白く見える。

成熟を起こすメカニズムはどのようなものだろうか。アオノリ類の遊走細胞放出は月齢とか、降雨の後の低塩分が影響するとの報告がある (Christie and Evans 1962; Pandey and Ohno 1985; Pringle 1986; 團ら 1997)。環境の変

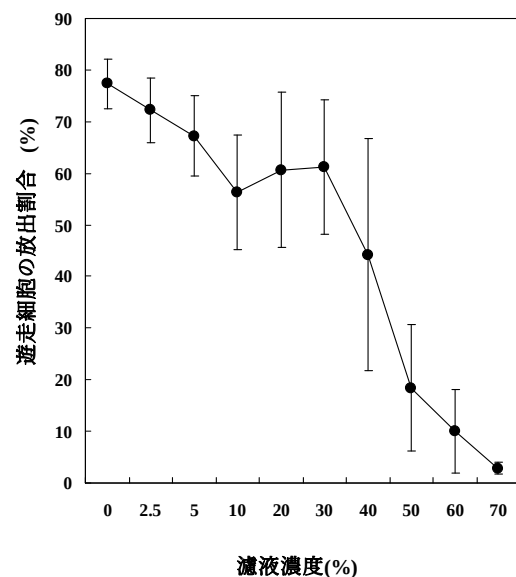


図2-1. 遊走細胞の放出割合 (%) とスジアオノリ藻体の抽出濾液の濃度との関係。垂直の棒は±SDを示す (n=25)。

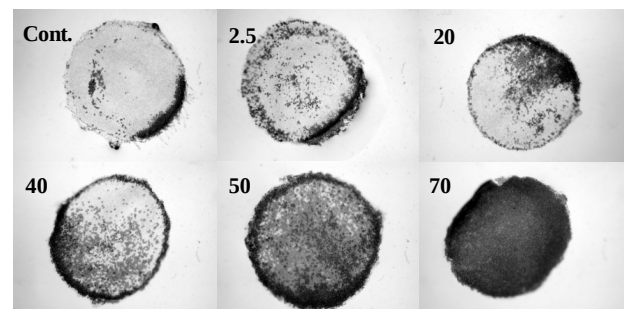


図2-2. 遊走細胞の放出は、ディスク上の遊走細胞を放出した細胞の面積の割合として示されている。濾液の濃度は、それぞれの写真の左上に示されている。

^{*1} 徳島県立農林水産総合技術支援センター水産研究課鳴門庁舎 (Fisheries Research Institute Naruto Branch, Tokushima Agriculture, Forestry, and Fisheries Technology Support Center, Dounoura, Seto, Naruto, Tokushima 771-0361, Japan)

化がアオノリの成熟に影響を与えているとすると、アオノリは外的なストレスに対し、どのような生理的応答を示しているのだろうか。図2-1, 2-2は、アオノリ藻体をすりつぶし、低塩分水に懸濁させ、濾過した後、濾液を数段階に希釈し、これに小さなアオノリの組織片を入れて培養し、バイオアッセイを行った結果である。濾液濃度が高くなるにつれて遊走細胞が放出された後の白色の割合が小さくなっており、成熟と胞子放出が抑制されて

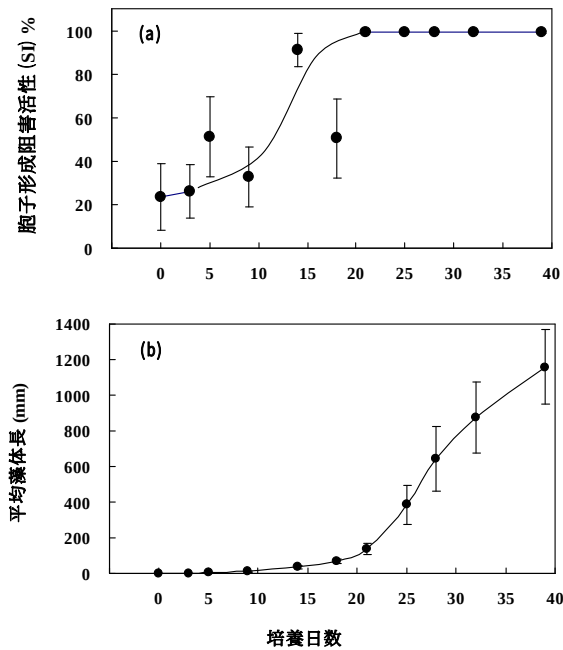


図3-1. 上の図は胞子形成阻害活性 (SI) (垂直の棒は $\pm$ SD ($n=25$)) を、下の図は平均藻体長(垂直の棒は $\pm$ SD ($n=50$)) を示す。藻体の培養は好適な生長の条件下(培養温度15℃)で行われ、開始時の藻体長は1.6 mmであった。

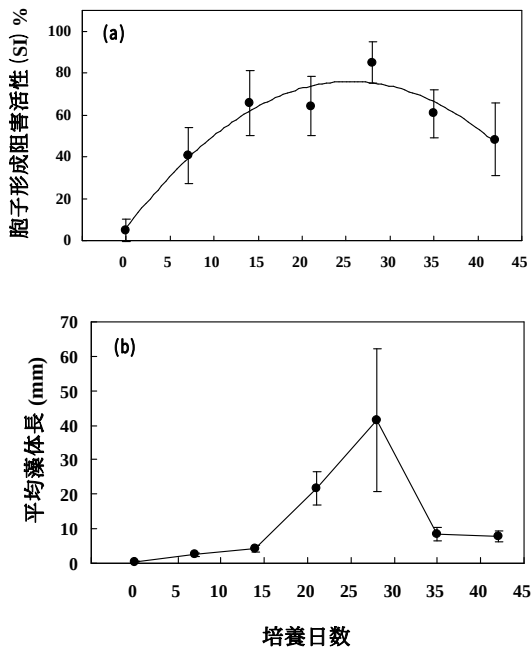


図3-2. 上の図は胞子形成阻害活性 (SI) (垂直の棒は $\pm$ SD ($n=25$)) を、下の図は平均藻体長(垂直の棒は $\pm$ SD ($n=25$)) を示す。藻体の培養は培養温度20℃の条件下で行われ、開始時の藻体長は0.5 mmであった。

いることが分かる。このことは、濾液中に成熟を阻害する物質(成熟阻害物質)の存在を示唆していると考えられる。

スジアオノリ自身が成熟阻害物質を作り出すとすると、生長の各段階で成熟阻害物質の量はどのように推移するのだろうか。成熟阻害物質の量が減れば先端部から成熟が起こり、組織崩壊により藻体が短くなり、成熟阻害物質が減らなければ藻体は維持されるはずである。ここで、バイオアッセイに供する藻体が含まれているももとの成熟阻害物質の影響を除外するために、遊走細胞の放出した割合を、濾液を加えていない場合(コント

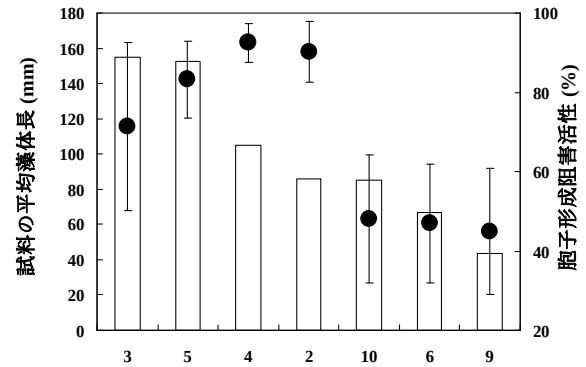


図4-1. スジアオノリ養殖漁場から採取した良好な成長の藻体と成熟した藻体の胞子形成阻害活性 (SI) の違い。●, 胞子形成阻害活性; □, 平均藻体長。垂直の棒は標準偏差を示す。

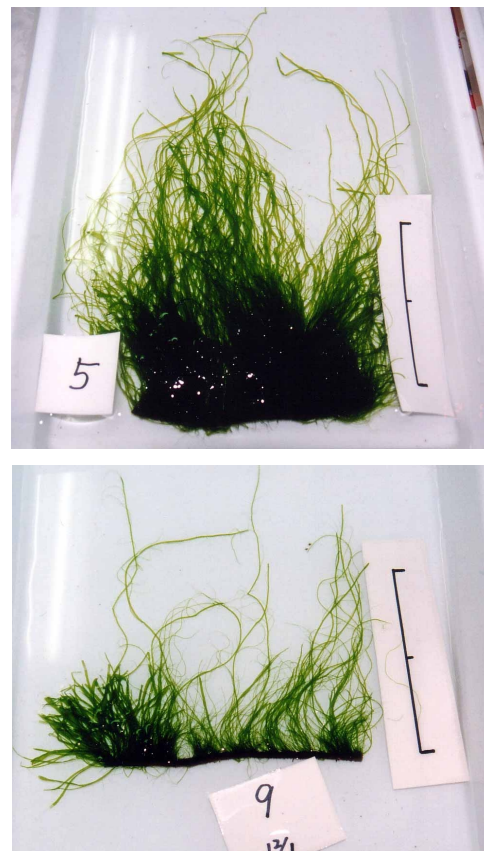


図4-2. 2000年12月、徳島県吉野川汽水域で採取した養殖網糸上のスジアオノリ藻体。写真上の試料番号5は、よく成長した藻体を示している。写真下の試料番号9は、成熟した藻体を示している。写真中の垂直の棒は10 cm。

ロール)の割合で補正した値を孢子阻害活性と呼ぶことにし、この活性値を成熟阻害物質の相対的な量と考えた。0.5~1 mm程度の小さな幼体を40日間培養し、3~4日ごとに培養藻体を上記と同じ方法で成熟阻害物質を含む濾液を作成しバイオアッセイを行った。図3-1は15℃での培養であるが、成熟は起こらず順調に生長し、活性値も21日目以降最大値を持続している。図3-2は20℃で培養したが、藻体の長さは28日で最大を示した。その後、成熟、崩壊が起こり短くなった。活性値も28日で最大を示し、その後低下しており、当初の仮説どおり成熟阻害物質の量が生長と強い相関があることが分かった。

スジアオリの養殖現場でも、これと似た現象が見受けられる。漁業者の経験では、水温の高い時期に無理をして養殖セットに種網を張ると、4cm程度までは伸びてくるのだが、その後成熟が起こり、先端部が流出

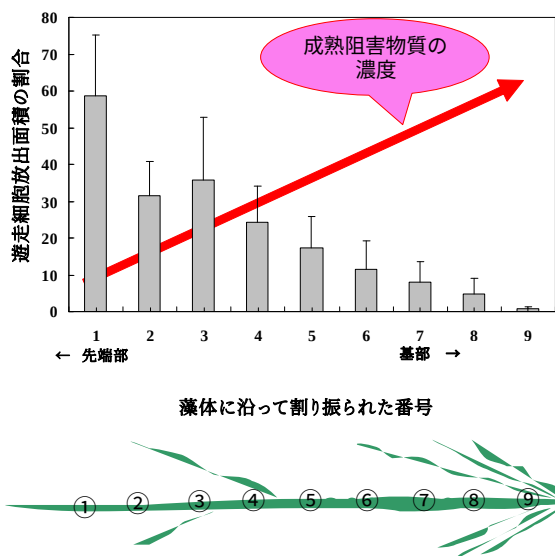


図5. 藻体軸に沿った遊走細胞放出率の分布。番号は、先端部から基部にかけ20 cmごとに割り振られている。垂直の棒はSDを示している (n=30)。

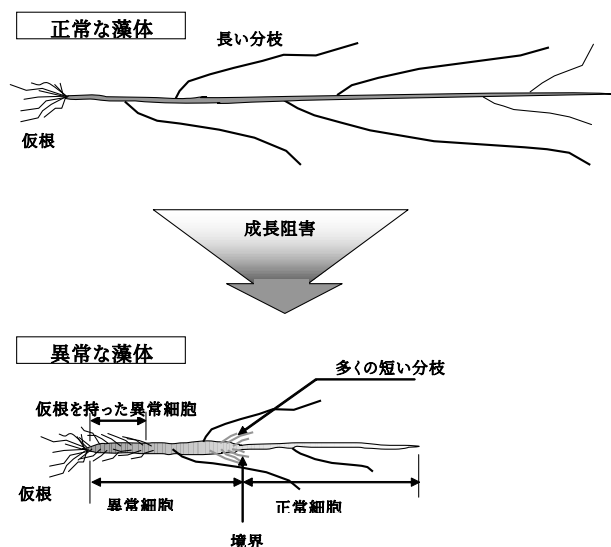


図6. スジアオリ藻体の抽出濾液が初期の平均藻体長が4.1 mmの発芽体の形態形成に与える影響についての模式図

することで、バリカンで刈ったようにすべての藻体の先が揃ってしまう現象が起こる。成熟阻害物質は藻体が小さい時には盛んに生産されるが、環境が不適であると量が減ってしまい成熟を引き起こすと考えられる。図4-1は、実際の養殖場で養殖されているアオリの阻害活性を測定したものだ。ここでも、藻体の成熟と阻害活性には室内実験と同じく強い関係が見られた。よく伸びた藻体(図4-1 3, 5番, 図4-2 5番の写真)は阻害活性値も高く、成熟が起こり短くなった藻体(図4-1 10, 6, 9番 図4-2 9番の写真)では活性値も低い。藻体は短い伸び盛りの藻体(図4-1 4, 2番)は活性値が高いことが分かる。

アオリ類は内側が中空であるストロー状の構造が特徴である。ストローの内側、細胞、藻体の外側に分けて、バイオアッセイにより阻害活性を調べてみると、内側が最も高い値を示した(Dan et al. 2002)。つまり、スジアオリ細胞は阻害物質を常に生産しており、それを細胞外に分泌し続けている。その結果、内側に阻害物質が溜まってゆくのである。藻体に何らかの原因で傷がつくと、内側の阻害物質が外側に漏れ、濃度が低下することにより成熟を引き起こされると考えられる。後に述べる人工採苗はこの現象をうまく使った技術である。

スジアオリの成熟はなぜ先端部で起こるのだろうか。図5は160cm程度の長さのスジアオリを先端から20 cmごとに直径0.9mmの円形に切り出した組織片の遊走細胞放出割合を示したもののだが、先端に向かうほど割合が増大している。これは、成熟阻害物質の濃度が紐状の長い藻体の中で均質ではなく、先端部ほど薄く基部ほど濃い濃度勾配を持っているからと考えられる。アナオサでも同様の報告があり周辺部から付着器にかけて濃度勾配がある(Hiraoka and Enomoto 1998)。

スジアオリの成熟阻害物質は特定されていないが、アオサの一種である*U. mutabilis*についてStratmann et al. (1996)により2種類の物質が報告されている。一つは糖蛋白質で、もう一つは非蛋白質で低分子量の物質であると報告している。スジアオリの抽出濾液が藻体の形態形成にどのような影響を及ぼすのか調べた報告がある(團ら 2003)。濾液の濃度を違えて4 mm程度のスジアオリの藻体を培養した結果、濃度が高くなると生長が抑制され、仮根を持つ細胞の割合が増える。甚だしい場合は藻体の先端まで仮根を持つことも観察された。また、短い多数の分枝を持つ割合も増えることもあった(図6)。この現象は2~8 mmの藻体を5℃で4~6ヶ月間光のある条件で保存した場合にも見られた(図7)。低温ではあるが、藻体の形態形成に影響を及ぼす物質を蓄積していった結果であると考えられる。この現象を利用できる用途としてはアオリのタンク養殖でないかと思われる。現在、高知県室戸市で行われているタンク養殖用種苗は孢子集塊法(特開2002-176866「孢子および発芽体の集塊化による海藻養殖法」)で生産されている(Hiraoka et al. 2004)が、細断藻体を高濃度の藻体抽出濾液で培養し、藻体片組織から多くの分枝を分化させることで、孢子集塊法よりも早

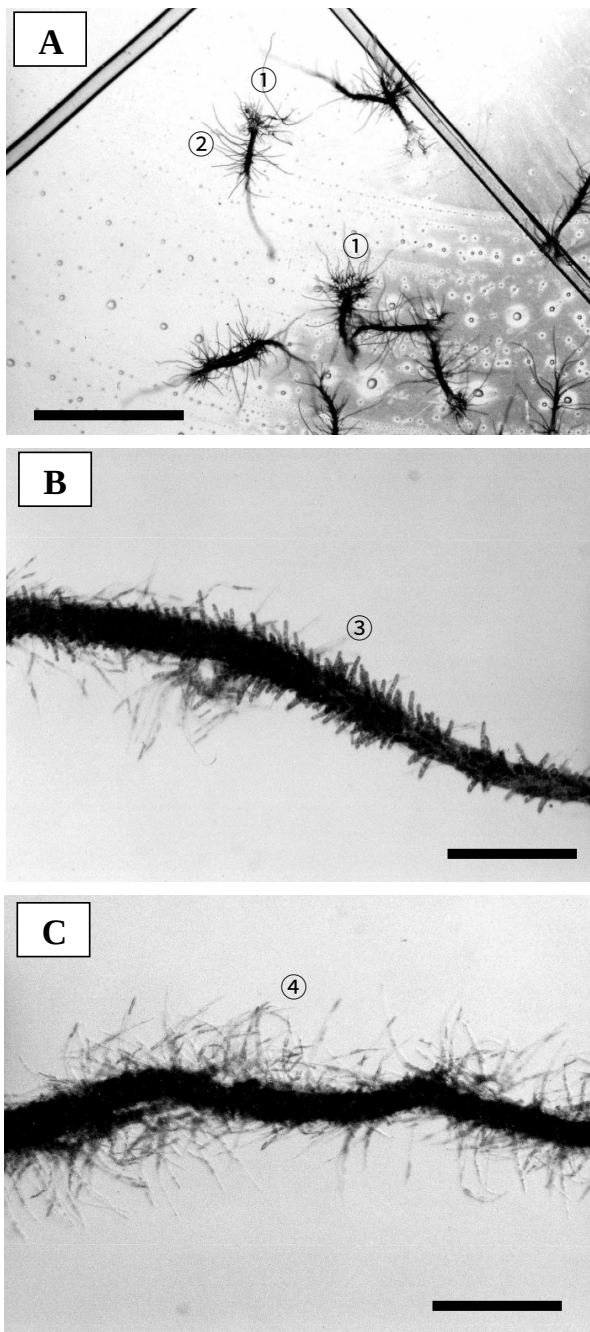


図7. 冷蔵温度で保存されたスジアオノリの形態変化
A. 0°Cの低温で保存された葉体 ①, 仮根; ②, 枝. 水平の棒は 0.5mmを示す. B と C. 光量 $8\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ と 5°Cの冷蔵温度で保存した葉体 ③, 葉体全体から発生した多数の分枝; ④, 葉体全体から発生した多数の仮根. 棒は10.0mmを示す

く種苗が生産できるのではないと思われる。

スジアオノリは藻体内の成熟阻害物質の濃度が低下しないように、自ら成熟阻害物質を生産、維持することにより自らの体を生長させているが、その濃度を低下させる外的ストレスはどのようなものがあるのだろうか。遊走細胞の放出の山が大潮時にくるという報告は国内外を含め多くある (Christie and Evans 1962, Pandey and Ohno 1985, Pringle 1986)。吉野川の天然採苗場での遊走細胞の放出量について調べてみたが、小潮時は大潮時に比べ放出量が少ないことが分かっている。大潮時にはアオノリが生育している海水の流動が激しく、それだけ傷がつきやす

くなるのではないかと推測できる。物理的な原因が考えられる例としては、養殖漁場での適水深は、表層を除き1mまでがよいとの報告がある (團ら 1997)。これは、表層から1mまで水深を違って養殖試験をしたものだが、表層のオプションとして透明の亚克力板を浮かべ、その下で養殖する場合を加えた。その結果、亚克力板がある場合には良好に生長した。ない場合は成熟が起こり生長しなかった。表層では波の影響が強いのだが、亚克力板で物理的影響を除去してやると生長できたのではないだろうかと推定された。また、養殖現場では養殖を開始する時期は小潮時がよいと言われている。これも海水の流動や塩分環境を考慮した漁業者の経験に基づいた知恵ではないだろうか。いずれにしても、表層では生長が悪く、養殖は避けるべきであるが、好適な水深帯は濁りなどによる光量の制限があるわけで、河川により異なるのは当然のことである。

物理的なストレス以外に水温、塩分、光量 (濁り) も考えられる。次の「繁殖生態」の頁で述べるが、高水温になる夏場にはアオノリは姿を消す。アオノリは同型世代交代であり、放出された胞子から直ちに発芽して親と同じ姿の藻体に生長しようとするのだが、高水温時には生長量よりも成熟量が大きく藻体を維持できないため、微細な細胞塊状で夏場をすごしている (図8)。水温が下がると成熟阻害物質の生産も盛んになり、藻体に生長してゆくと考えられる。平岡ら (1999)は、10°Cから30°Cまで5°Cごとに温度を違ってスジアオノリを培養したところ20°C以上では成熟が起こり、藻体が短くなった。温度が高いほど短い期間で成熟が起こったが、15°C以下では成熟が起こらないか程度が小さく、実験終了時まで生長し続けた。養殖現場でも20°Cを下回らないと生長がみられないことが経験的に分かっており、水温はアオノリ類の生長にとり最も大きな環境要因と言える。

成熟阻害物質の存在については、1970年代頃からヨーロッパの研究者によりアオサについての論文 (Nordby and Hoxmark 1972, Nilsen and Nordby 1975, Nordby 1977, Stratmann *et al.* 1996)が多く発表されていたが、この延長線上で日本においても1998年にアナアオサについて報告



図8. 夏場のスジアオノリの姿。小石の表面、ヨシの根元などにおいて細胞塊状で生息している

されている(Hiraoka and Enomoto 1998)。一方、スジアオノリについては團ら(1997)により母藻細断による人工採苗の研究が発表されたのが最初である。しかし、この論文では成熟阻害物質の存在について触れておらず、藻体を細断すれば成熟が起り、人工採苗ができると報告しているだけである。母藻細断法は、多くの試行錯誤の中からまったくの偶然により生まれたものであるが、おもしろい研究とは案外、理詰めではなく遊び心が必要なのかも知れない。その後、スジアオノリの成熟阻害物質についての研究は團らにより1998年から2003年にかけて発表されている(團ら 1998, Dan et al. 2002a, Dan et al. 2002b, 團ら 2003a, 團ら 2003b)。母藻細断という偶然の発見による応用研究が先行し、あとづけで基礎研究がおこなわれたということになる。

2. 繁殖生態

1) アオノリの消長

アオノリの繁茂は水温の低下した冬場であるため、まず、水温(気温)により制限されていると言える。しかし、単純に水温だけに支配されているわけではなく、塩分にも大きな影響をうけるようだ。筆者らは徳島県内の吉野川と日和佐川のスジアオノリの被度と藻体長を2000年から2カ年調査したが、降水量(塩分)と被度との間に関係が強く見られ、冬から春にかけての塩分の上昇と被度の増加が一致した。また、雨の少ない年は夏期まで被度が延長された。さらに、河川の持つ川幅や水深などの地形構造の特徴により河川環境の特性も異なる。吉野川のような大河川では安定した塩分環境が形成され、日和佐川のような小河川では変動の大きな塩分環境となる。四万十川は大河川でありながら塩分変動の大きな特徴を持っており、アオノリの繁茂は冬期から春期の間で分断されたものになっている。また、塩分環境はそこに棲むスジアオノリの生活史型にも影響を与える。より厳しい環境の河川では有性生殖型が多く、多様な子供をつくることで生き残ってゆこうという戦略をとり、安定した環境では無性生殖型で効率的に繁殖してゆくという戦略を選んだと考えられる。不思議なことに、吉野川では無性生殖型のアオノリしか見つかっていない(Hiraoka et al. 2003)。

アオノリの種類によっても生長に好適な塩分環境は異なることが予想される。吉野川のスジアオノリは藻体の長さ、被度の年間推移から、生長に好適な塩分は上流から下流の中間にあるとの報告がある(團 2005)。一方、愛媛県で行われているウスバアオノリの養殖漁場は河口付近の海面である(愛媛県中予水試東予分場 1999)。採苗場は海面漁場と河口にある天然アオノリの生息地にあり、スジアオノリよりは高塩分を好むようだ。

最近では、アマノリ養殖漁場でアオノリの養殖が試みられているようだ。スジアオノリの生長はみられないが、ウスバアオノリは成功しているようである。いかに広塩性種といえどもアオノリの種類により好適な塩分環境は異なっているようである。平岡は、四万十川のスジアオノリについて、もともと海に生息していたウスバア

オノリが上流に向かって分布を拡げたのではないかと推測している(平岡 2003)。四万十川のスジアオノリの形態は河口域ではウスバアオノリと同じ形態であるが、上流に向かうにつれ幅が短くなり枝分かれも多くなる。しかも、DNAを抽出しITS領域で塩基配列を比較すると、ほとんど違いがなく同種レベルだそう。どうやら、塩分がアオノリの形態や分布を制限している可能性が高いようである。

2) 遊走細胞の放出環境

ア 水温と遊走細胞放出

アオノリは、夏場には微細な細胞塊状となっており、水温低下にともなって藻体に生長してゆく。吉野川での天然アオノリからの遊走細胞の放出量を調査するために、河川に調査定点を設け、垂直に糸を張り、一定期間後に回収して室内培養を行い、1 cm当たりの発芽体数を計数した。この数を放出された遊走細胞の相対量とすると、河川の淡水化の影響がない場合には、水温25℃を下回る10月上旬から増加し始め、12月上旬までは遊走細胞は多く放出されており、1月下旬に10℃を下回るが1月も少量ながら放出されていることが分かる。このことを裏付けるための室内実験を行った。遊走細胞の最適放出温度を調べるため、吉野川産のスジアオノリを直径0.9 mmの小さな組織片を5℃から30℃まで5℃刻みの温度で培養した。培養後7日目に良好な遊走細胞放出(遊走細胞放出面積が50%以上となった組織片の割合)となった温度は15～25℃であり、10℃と30℃では放出の程度は4割程度に低下し、5℃ではまったく放出はなかった。この結果は、天然での遊走細胞放出のピークである天然採苗の期間に一致(10月上旬の25℃から15℃を下回る11月末まで)していた。

愛媛県西条市賀茂川で行われているウスバアオノリの養殖は、水温は8～10℃になる12月下旬から1月に開始される。愛媛県が賀茂川で、水温が15～20℃である10月末から11月中旬まで遊走細胞の放出を調査した結果、多くの放出が見られた。ウスバアオノリの遊走細胞放出の温度帯は、スジアオノリと比べ若干低めにずれている可能性もあるが、ウスバアオノリの養殖を考える上で、組織片を使った室内実験を行い詳しく調べる必要があるだろう。

イ 塩分と遊走細胞放出

近年の異常気象による増水により漁場の低塩分化が頻繁におこるようになった。吉野川のように塩分環境の安定している河川でも天然採苗に影響をうけることが多くなっている。好適温度と同様の方法で塩分濃度を違えて小さな組織片を培養した。培養後7日目に良好な遊走細胞放出となった塩分は13.2～45.3psuであり、3.3psu以下ではまったく放出はなかった。3.3psuほどの程度の海水濃度かということ、通常の海水が31～32 psuであるから約1%程度の海水であり、ほとんど真水状態である。3.3 psuでは成熟は進むが放出はできないという状態であり、河川内の塩分が回復すると一挙に生殖細胞を放出拡散し、いち早く繁茂するという生存戦略を持っているの

かもしれない。また、19.9psu以上の海水であれば、ほぼ100 %成熟・放出を行う。つまり、60 %海水以上が最適な遊走細胞放出塩分濃度である。

3) 天然スジアオノリ

天然スジアオノリの収穫風景は春の風物詩にもなっているが、近年、全国的に生産量は激減している。四万十川でも平成10年からは年間10トンを下回る年が多くなり、最近では3トン程度までに落ち込んでいる。高知大学の調査では胞子の供給量は十分あり、河床の石等からは小さな幼体は多く見られるものの、先端部からの成熟、流失により収穫まで生長できていないそうである。生長を阻害している原因として、河口付近の海水温とスジアオノリ収穫量は負の相関関係にあることから、海水温の上昇が原因と推測しているようだ。また、近年の浄化槽や下水道の普及等による窒素、リンなどの栄養分が不足していることもあげている。いずれにしても、原因の特定はできていないようであるが、増産に向けての検討が進められているようだ（四万十市・高知大学連携事業推進会議 2013）。

もう少し、天然スジアオノリの収穫量の減少の原因を考えてみることにする。芽は出ているが伸びない。一義的にはアオノリ藻体内の成熟阻害物質の濃度が減少し、先端部から成熟、流出するために生長しないということになるが、どのような外的なストレスが影響しているのか。「昔は年内に収穫できたが、今は遅くなっている」との漁業者の声があるが、これは水温が関係していることが推測される。「収穫場所が上流に移動している」との話は、塩分の上昇が原因しているかも知れない。河川水の濁度の増加による光量不足も考えられる。しかし、高水温が原因といっても12月や1月の河川水温は、どのような暖冬であろうとも20℃以下には間違いないし、塩分について、スジアオノリは海水の100分の1ほどの低塩分から、1.5倍ほどの高塩分まで正常に生育できる広塩性藻類である（Htun *et al.* 1986）と言われており、原因としては考え難い。

タンク内で培養した場合、天然では生育しない高水温や塩分環境でも生育することを、筆者は経験上分かっている。タンク内の塩分環境は非常に安定している。また、養殖での経験から大潮時よりも小潮時に良好に生長することも知られている。大潮時の河川水は強混合状態にあり攪乱が大きい。一方、小潮時には上下の水塊を形成するため穏やかである。大潮時には、高水温の海水と冷却された淡水の温度など、短期間の環境の変動が大きくなることで、外的ストレスに耐えられず、藻体内の成熟阻害物質濃度が低下するのではないかと考えている。可能性としては少ないと思われるが、窒素とリンの比率（N/P比）が大きくなり、リン量の比率の低下がアオノリの生長を阻害していることが考えられる。愛媛県（愛媛県中予水試東予分場 1999）は、室内培養で栄養塩吸収試験を行った結果、リン量がアオノリの重要な生長因子となることを示唆している。北角ら（1991）も、吉野川河口域の環境モニタリングをおこなった結果、増水した低塩分時にはDIN濃度が上昇するが、逆にP04-Pは低く

なり片寄った栄養塩状態になると報告している。淡水化時のリン量低下が制限因子となりアオノリの生長を阻害しているのかもしれない。

3. 養殖技術

1) 人工採苗

スジアオノリの人工採苗は、「母藻細断法」が一般的である（團ら 1997）。この方法を改変した方法も徳島県だけでなくそれ以外の県でも行われている。各県の水産試験場、普及組織及び漁業団体の指導でアオノリ類の人工採苗が行われている。人工採苗自体は簡単な方法であるが、再度、それぞれの工程を検証してみる。なお、母藻細断法は、スジアオノリだけでなくウスバアオノリやアオサ類についても適用できる方法である。

ア 母藻の準備

スジアオノリ母藻の保存は、5℃の低温室内で26 $\mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 程度の光量（20W蛍光管1本）下で、透明な容器内に海水の20～30%の母藻を保存する（図9）。保存用の海水は5～25psuのやや低塩分が母藻の成熟を促進させる効果がある。

母藻の保存は、なるべく簡便な方法が都合がよい。そこで、保存条件についてももう少し検討してみた。長さ36～96 cmの藻体を-10、5、20、30℃、光の有無、水中または湿潤（藻体の表面の水分を拭き取った状態）別の条件で保存実験を行った。その結果、5℃の明条件で水中、湿潤、20℃の明条件で水中の場合だけが、4ヶ月保存後の母藻細断により遊走細胞を放出した。また、保存期間が長くなるにつれ遊走細胞の放出割合が上昇しており、保存中に成熟阻害物質が減少したことが推測される。この結果、5℃の湿潤状態での保存が最も実用的と考えられた。さらに実用規模での実験として、百グラム程度の母藻を表面の水分がなくなるまで乾燥させ、さらに母藻がゴム状に弾力を持つ程度まで乾燥を進めたものを、チャック付きのビニール袋に密封し5℃の低温で保存した。その結果、2ヶ月程度の保存には耐えたが、4ヶ月の保存はできなかった。アオノリの環境耐性は藻体が小さいほど高いという報告がある（大野ら 1969）。基質に付着したばかりの生殖細胞が最も耐性が高く、数ミリの幼体、数十センチの藻体と大きくなるほど保存が難しく

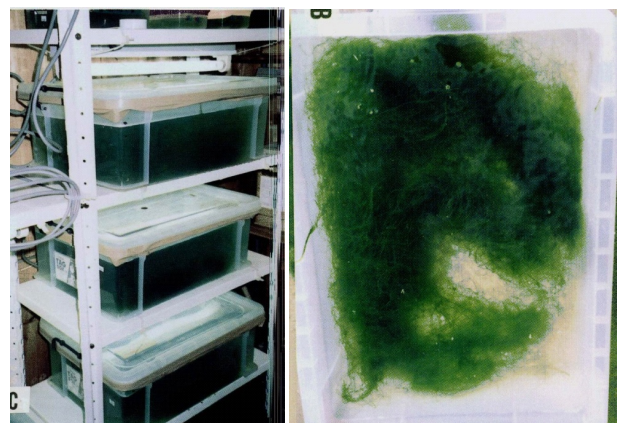


図9. スジアオノリ母藻の保存

なる。数十センチの母藻を保存するには、湿潤状態での保存はやはり難しいと考えられ、海水中で保存するのが最適ということになる。

なお、ウスバアオリの母藻保存では保存海水に対する母藻の容量は2%程度がよく、4%を越えると、途中で腐敗するとの報告がある（愛媛県中予水試東予分場1999）。愛媛水試は、ウスバアオリとスジアオリの形態が大きく異なることが原因ではないかと推測している。また、遮光した場合は枯死したということであり、 $22 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 程度の光量が適当とされている。

イ 母藻細断

ブレンダー（汎用家電のミキサーでよい）で藻体を1～7 mm程度まで細断する。どうしてもブレンダーではサイズのばらつきがあるのはやむを得ないが、時々サイズを確認しながら細断するのがよい。細断サイズを、0.9 mmから2 mmまで成熟の程度を比較したところ、0.9 mmが最も早く成熟した。細断サイズは小さいほど速やかに成熟、遊走細胞を放出する。組織片が小さいほど成熟阻害物質が速やかに流出するためであると考えられる（團ら1998）。

用いるスジアオリ母藻は、冷蔵保存等である程度成熟が進んでいるものは細かく細断する必要はない。しかし、生長中の若い母藻をもちいる場合はできるだけ細かく細断する必要がある。細断しても遊走細胞が放出されず、母藻細断法の再現性がないと誤った判断をする場合があるが、用いる母藻が含んでいる成熟阻害物質の量が多い（伸び盛りの藻体）ことが原因と考えられる。

1トンの採苗水槽に必要な母藻の量は、母藻が含む成熟阻害物質が遊走細胞放出を阻害しない量まで、用いてもよいことになる。実験の結果、その量は100gまでなら使用可能ということになるが、採苗に必要な胞子液の濃度から考えると、50 g以下でよい。極論すれば、アオリの葉が全部、一斉に成熟し遊走細胞を放出するならば、1トン水槽で1ml中に10尾の濃度で採苗するならば、幅3 mm、長さ10cmの葉が1枚あれば足りることになる。実際には全てが胞子化することはないので、もう少し多く必要となる。いずれにしても、母藻の量はあまり多くはいらない。

人工採苗に用いる母藻に含まれる成熟阻害物質の濃度が低ければ、藻体を細断せずとも先端部から成熟し遊走細胞を放出する。母藻細断法は、用いる母藻のコンディションとして成熟阻害物質が低下している母藻を用い、細断することで容易に成熟、遊走細胞の放出を同調させることができる。母藻細断法の改変として、岡山県では母藻をミカン袋などに入れ、叩き、母藻を傷めることで遊走細胞を放出させる方法を考案している。これも藻体に含まれている成熟阻害物質を流出させることで成熟を促進させていると解釈でき、うまく母藻のコンディションを整える方法である。

エ 細断藻体片の洗浄（成熟阻害物質の洗浄低減）

藻体の二層構造の間にある成熟阻害物質を洗い出す作業として、20ミクロン程度のネットで細断後の藻体片を受

表1. スジアオリの成熟のための最適条件

温度	20～25℃
塩分	20～32 psu
光量	$16 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上必要
通気の有無	有り

け、10分程度流水で洗浄する。

オ 成熟促進

採苗のために透明の水槽に海水を入れ、通気する。これに洗浄後の細断片を入れ成熟促進を行う。成熟及び遊走細胞の放出最適条件は表1に示した。20～25℃の範囲が最適な温度であるが、この範囲を外れても量は少なくなるが放出するので、気温が低温、高温時でも可能である。塩分濃度については、通常海水を用いる場合は問題ないと考えられる。筆者らは、海水2に淡水1の割合でスジアオリの採苗水を作成している。これは海水の約67 % (22psu)あたりの塩分濃度である。ウスバアオリは100 %海水がよい。光量については、屋外であれば日陰でもまったく問題はない。

カ 遊走細胞の放出と採苗

理論上は、細断後3日目朝に遊走細胞が放出されるが、母藻の持っている成熟阻害物質の量により、もっと早く放出されることもある。光りが放出の刺激となるので、水槽を屋外に設置した場合は、朝に放出されることになる。遊走細胞放出を確認後に、網は午前中に入れるのがよい。

遊走細胞の遊泳時間であるが、置かれた環境条件によっては予想以上に長い。水温が高いほど遊泳時間は短くなり、30℃では3時間で半数の遊走細胞が停止するが、15℃では6時間となる。また、低塩分でも遊泳時間は短くなり、14psu（約43 %海水）以上であると正常な遊泳時間となる。これは遊走細胞放出の最適な塩分条件と一致する。さらに、暗黒条件下では遊泳時間が非常に長くなり、5℃の低温下で遊走細胞液を遮光した場合、3日間遊泳が見られている。 $5 \mu\text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上（約600lux）の光量であれば正常な遊泳時間となる。

採苗水槽の温度、塩分の培養条件は成熟促進と同じであるが、養殖網を多く入れるため、網の中心部の光量は弱くなることが予測される。このため、採苗水槽は透明の水槽がよい。設置場所は日陰では光量不足となる可能性がある。これを補うために、水槽内の網返しと強通気を行う必要がある。

2)種網の保存

アマオリ類で行われている冷凍網をモデルとして、なるべくその方法に近い保存方法を目指した。アマオリ冷凍網では、「アオリ殺し」の意味で雑藻であるアオリを除去するために種網を冷凍保管する。スジアオリの種網を冷凍保管してみたが出庫後、死滅した。そこで、保存実験を行い、温度（-10, 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30℃）、期間（2, 4, 6ヵ月）、光の有無、培養水の有無、

保存開始時の芽のサイズ（放出後の生殖細胞，1.7，3.4，15.5，64 mm）について実施した。0℃以上で生存が見られる場合が多いが5，10℃が最適となった。5～10℃の低温では，湿潤と培養水中では生存に差異はないが，高温になると湿潤状態では死滅した。保管時の光の有無については，4ヶ月以上の保管で光りがある場合に異常個体（藻体全体が多数の仮根や分枝を持つ）が増加した。海藻類の生殖細胞（アナアオサ，ヒトエグサ，アサクサノリ，マクサ，カヤモノリ，アラメ）が光のない状態でどれだけ生存できるのか過去にも実験されている（新崎 1953）。この結果，低温にするほど，どの種も生存率が高く，生存能力は緑藻が褐藻，紅藻に較べて高いと報告されている。アオノリ類の低温下での種網保管には，光はむしろ必要ないものであると考えられた。入庫サイズは，生殖細胞の状態での保管が出库後の成長が最も良好で，15.5mm以上では出库時には死滅していた。

種網の最適な保管条件は，取扱の容易さから培養水中ではなくビニール袋中に水を切った種網を入れ，できるだけ中の空気を抜いた状態で密封し，5℃の低温が得られる冷蔵庫中でなら，少なくとも4ヶ月は保存できる（團ら 2003）。もちろん，庫内の照明は必要ない。図10のような入庫状況となる。また，種網の芽の入庫サイズであるが3 mm程度の小さい芽の段階がよい。この状態は，育苗時にちょうど網が緑に色づく程度となった時を目安にする。実験では，生殖細胞で入庫するのが最もよいのであるが，現場作業では顕微鏡で確認するのがたいへんであろう。入庫期間であるが，最適条件であるならば4ヶ月以上可能であると考えられる（1年程度保管できた事例もある）。

種網保存技術も様々な応用方法がある。たとえば，天



図10. 冷蔵網の保存状況

然採苗場で芽生えてきた種網がある場合，台風などの接近で漁場環境の悪化が予想される時は，短期の避難として冷蔵庫への入庫が行われている。野外に出した種網は，短期間であれば保存は可能であるが，長期間は腐敗等が起こり易いため避けたほうがよいだろう。やはり長期間の保存には水槽の中で人工採苗された種網でなければ，保存中に失敗することが多い。また，種網の冷蔵保存に失敗する事例としては，長い芽，大きい芽を入庫した場合である。出库後の生長を考えて，なるべく大きな芽を入庫したい気持ちは分かるが，3mm程度が限界であろう。

種網保存のメリットとしては，人工採苗の最適水温が20～25℃と狭い範囲なので，屋外で作業する場合，気温に左右されるため適期間は短い。このため，採苗が終わった網をどんどん冷蔵庫へ入庫しておくことで，効率的に採苗水槽を利用できる。また，低水温時には極めて採苗しにくいので，前もって適期に採苗しストックしておくことができる。春の養殖期に向かって3月に屋外で採苗しようとするれば，たいへんな困難が待ち受けている。天然採苗でも同じである。

3) 育苗管理

アマノリ類では育苗期に強い健全な芽を作るために干出操作が行われる。アオノリでも干出が必要なのであろうか。吉野川のスジアオノリ天然採苗場（通称「種場」と呼ばれている）では河口から6～8 km上流にある。水深の浅い砂州に竹杭を立て，天然採苗や人工採苗をした網を張り込んでいる。漁業者によると「適度な干出により強い芽ができる」とのことである。干出操作を行った網は，その後の養殖漁場での生長が速いそうである。干出操作により，乾燥に強い種苗が，その後の養殖場での生長が促進されるのかどうかその理由は判然としない。しかし，干出により芽数を調整することで，生長が促進されるという可能性はある。

スジアオノリにも最適な芽数というものが存在するかという疑問に答えるため，天然採苗場で養殖網を河床から150 cmの高さまで斜めに設置し，干出時間が少しずつ違う種網を作成することにした。それぞれの高さでの干出時間を把握するために，自記水位計を設置し，網の高さごとの干出時間を記録した。大潮時と小潮時の2回，天然採苗と育苗を4～5日間行い，その網を養殖漁場に移し，36～39日間試験養殖を行った。網の干出時間ごとにラベルしてあるので，養殖終了後はラベルごとの網糸上の芽数と重量を求めた。図11に1潮ごとの空中露出時間と網糸1 cm当たりのスジアオノリの乾燥重量との関係を示した。乾燥時間が増加するとともに重量が減少するという予想通りの結果であるが，吉野川での標準的な収穫量である1cm当たり80mgを下回る干出時間は3時間となった。他の報告でも3～4時間の干出が生育の限界であるとの報告が多く（Christie and Evans 1962, Pandey and Ohno 1985, 團ら 1997），着生したばかりの生殖細胞の生育に影響を与え始めるのは3時間あたりと推定された。つまり，天然採苗では干出が3時間を超えると芽数が減ることで収

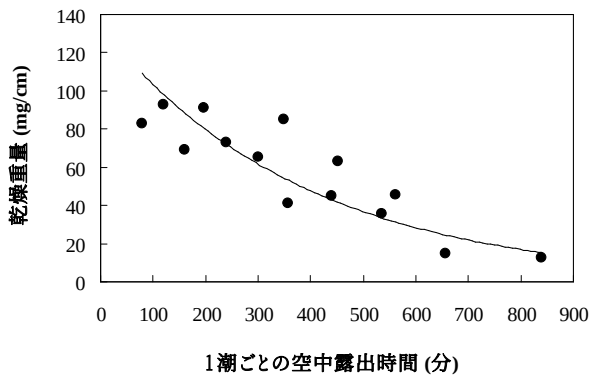


図11. 1潮ごとの空中露出時間と網系1cm上のスジアオノリの乾燥重量との関係

量が減少することが分かった。ただし、これは着生したばかりの生殖細胞が影響を受ける干出時間が3時間からということであり、もう少し生長の進んだ芽であれば、これよりも遙かに干出に強くなる。人工採苗した網であれば7時間あたりでなければ影響がでない。スジアオノリは予想以上に乾燥に強い植物で、肉眼視できるようになったものは少しくらいの干出では死なない。

干出の影響が出始めるのが3時間ということが分かったが、どの程度の芽数に調整すればよいのだろうか。網系上の芽数と重量との関係を図12に示したが、1cmあたり150本の芽数を超えると乾燥重量が80~120mgの範囲に一定することが分かる。このことは、最適な芽数というものではなく、150本以上になれば小芽が増加するだけで収量には影響がないことになる。アマノリ類では50本程度が適正(野田・岩田1983)とされているが、藻体の形なども影響するのかも知れない。形態がアマノリ類に似るウスバアオノリでは適正な芽数があるかも知れない。

種場での育苗管理の話に戻るが、芽数調整の意味からはスジアオノリ養殖にとり種場というものは必要はないのではないかと。吉野川でのスジアオノリ養殖では、種網を養殖場に張り込んで、その後の生長が悪ければ、どんどん新しい種網に張り替えていくのが通常のスタイルだ。そのため、干出することで生長抑制をかけながら予備の種網をストックしておくという機能を果たしていると考えられる。筆者らも吉野川で養殖試験を行ったが、

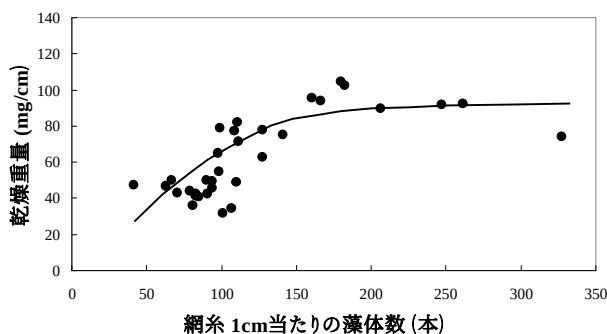


図12. 網系1cm上のスジアオノリの藻体数と乾燥重量との関係。養殖網の網系1cm上では、乾燥重量で80から120mgが最大の現存量であることを示している。図は藻体数150本以上であれば、80から120mgの最大の現存量を維持し続けることを示している。

人工採苗した網は種場を経由せずに直接、養殖漁場に張り込み、問題なく生長している。失敗する場合は、ほとんどの場合、水温が高いとか塩分が低いなどの環境が生長に適していない時期に養殖を開始することに原因があった。

4. おわりに

今まで、漁場での生産技術について述べてきたが、アオノリは加工して初めて製品になる。このため、優れた加工技術を持たないことには、よい製品は生み出せない。これからの研究分野としては加工技術、そして安全安心な製品を作り出す研究も必要となってくるのではないだろうか。養殖アオノリは天然アオノリに比べ夾雑物が少なく、それだけ安心と言えるが、異物混入を抑えるために、養殖や加工法について業界内での基準作りや、それを支援する技術開発も重要となると考えられる。

現在、海外からの輸入はそれほど多くない。中国では、天然アオノリを原料とした生産だけであるが、将来的には養殖技術を獲得して輸出が増加することも予想される。その前に、技術を磨き産地を育成することで、優位性を確立しておく必要があるだろう。

また、これまでの養殖とは根本的に違う技術として、室戸市で行われているタンク養殖があるが、将来的には有望な養殖になってくると考える。深層水を使わずとも海水井戸等を使えば、タンク養殖はある程度はできる段階にきていると聞いている。陸上植物では、植物工場の研究が盛んであるが、安心安全、安定生産を目指すところはタンク養殖と同じである。海藻養殖でも施設園芸的な手法を考える時期がきているのかも知れない。

文 献

新崎盛敏 (1953) 海藻胞子の発芽、生育に及ぼす光の影響に関する二、三の実験. 日水誌, **19**(4), 466-470.

Christie A. O. and L. V. Evans (1962) Periodicity in the liberation of gametes and zoospores of *Enteromorpha intestinalis* Link. *Nature*, **193**, 193-194.

團 昭紀, 大野正夫 (1997) 異なる方法で採苗したスジアオノリの成長. 水産増殖, **45**(1), 1-4.

團 昭紀, 大野正夫, 松岡正義 (1997) スジアオノリの母藻細断法による人工採苗. 水産増殖, **45**(1), 5-8.

團 昭紀, 平岡雅規, 大野正夫 (1998) スジアオノリの成熟促進に及ぼす細断片のサイズ、温度の関係. 水産増殖, **46**(4), 503-508.

Dan A., M. Hiraoka, M. Ohno and A. T. Critchley (2002a) Observations on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Muller) J. Agardth (Chlorophyta, Ulvales). *Fisheries Sci.*, **68**(6), 1182-1188.

Dan A., M. Hiraoka, M. Ohno and N. Notoya (2002b) Activity of a sporulation inhibitor in the green alga, *Enteromorpha prolifera*. *Jpn. J. Phycol.*, **52**: 79-82.

團 昭紀・広沢 晃・牧野賢治・大野正夫・能登谷正浩 (2003) 緑藻スジアオノリの冷蔵保存. 水産増殖,

51(1): 7-14.

團 昭紀・平岡雅規・大野正夫・能登谷正浩 (2003a) 成長の異なるスジアオノリ藻体での胞子形成阻害活性の決定. 水産増殖, 51(2): 165-172.

團 昭紀・平岡雅規・大野正夫・能登谷正浩 (2003b) スジアオノリ藻体抽出物が初期形態形成に及ぼす影響. 水産増殖, 51(2): 229-230.

團 昭紀 (2005) 徳島県吉野川と日和佐川に生育するスジアオノリの生態. 徳島水研報, 4: 29-35.

愛媛県中予水試東予分場 (1999) アオノリ養殖生産管理技術に関する総括報告書. 愛媛県, 1-51.

Hiraoka M. and S. Enomoto (1998) The induction of reproductive cell formation of *Ulva perutusa* Kjellman (Ulvales, Ulvophyceae). Phycol. Res., 46, 199-203.

平岡雅規・團昭紀・萩平将・大野正夫 (1999) 異なる温度条件下におけるスジアオノリのクローン藻体の成長と成熟. 日水誌, 65(2), 302-303.

Hiraoka M., A. Dan, S. Shimada, M. Hagihira, M. Migita and M. Ohno (2003) Different life histories of *Enteromorpha prolifera* (Ulvales, Chlorophyta) from four rivers on Shikoku Island, Japan. Phycologia, 42(3), 275-284.

平岡雅規 (2003) 四万十川のスジアオノリ. 海藻利用への基礎研究. 能登谷正浩(編), 東京. 生山堂書店, pp. 83-87.

Hiraoka M., M. Ohno, A. Dan and N. Oka (2004) Utilization of deep seawater for the mariculture of seaweeds in Japan. Jpn. J. Phycol., 52: 215-219.

Htun U. S., M. Ohno and S. Mizuta (1986) Effect of salinity and temperature on the growth of green alga, *Enteromorpha prolifera*, in culture. Rep. Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ., 8, 9-13.

北角 至, 大塚弘之, 神野 剛, 勝本重雄 (1991) 吉野川河口域におけるアオノリ漁場の環境について. 平成元年度徳島水試事報: 160-167.

Nilsen G. and ϕ . Nordby (1975) A sporulation-inhibiting substance from vegetative thalli of the green alga *Ulva mutabilis*,

F ϕ yn. Planta, 125, 127-139.

Nordby ϕ . (1977) Optimal conditions for meiotic spore formation in *Ulva mutabilis* F ϕ yn. *Bot. Mar.*, 20, 19-28.

Nordby ϕ . And R. C. Hoxmark (1972) Changes in cellular parameters during synchronous meiosis in *Ulva mutabilis* F ϕ yn. *Exptl. Cell Res.*, 75, 321-328.

野田宏行, 岩田静昌 (1983) 新編・海苔製品向上の手引き. 東京, 全海苔漁連. 297p.

大野正夫・新崎盛敏 (1969) 海藻類胞子に対する暗処理の検討. 藻類, 17(1), 37-42.

Pandy R. S. and M. Ohno (1985) An ecological study of cultivated *Enteromorpha*. *Rep. Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, 7, 21-31.

Pringle J. D. (1986) Swarmer release and distribution of life-cycle phases of *Enteromorpha intestinalis* (L.) (Chlorophyta) in relation to environmental factors. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 100, 97-111.

Stratmann J., G. Paputsoglu and W. Oertel (1996) Differentiation of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) gametangia and gamete release are controlled by extracellular inhibitors. *J. Phycol.*, 32, 1009-1021.

四万十市・高知大学連携事業推進会議 (2013) 四万十川の幸を考える, スジアオノリ基本構想.