

スジアオノリの生理生態学的研究とその養殖技術への応用

團 昭紀

徳島県吉野川のスジアオノリ養殖で人工採苗の取り組みが始まって10年以上が過ぎた。この人工採苗技術は漁業者の方々とともに取り組み、研究し、できあがったものである。当初は、講習会や現地指導などにより、漁業者の方にも充分理解をいただいていたわけだが、今や、何故このような作業をするのか意味がよく分からないまま行われていることもあるようだ。本論文は、2003年にとりまとめたもので少々古いデータもあるが、人工採苗技術や冷蔵網技術の基となる研究結果が含まれており、現在行われている技術を再確認するためにも有意義な内容でないかと思う。現在、これらの技術を使われている方はもとより、これから始められる方にも参考にさせていただければ幸いである。

2008年 春

要 約

スジアオノリは、西日本を中心に静穏な河口域やそれに繋がる海に産する食用緑藻である。近年は河川環境の悪化により天然採取による生産は僅かであり、ほとんどが養殖により生産されている。そのなかでも徳島県吉野川河口域では年間60～70トン(乾燥重)が生産されており、全国一の産地を形成している。しかし、吉野川のスジアオノリ養殖には幾つかの問題点を抱えており、その中で最も大きなものとして、天然採苗に依存した不安定な種網の供給があった。スジアオノリの生産は年ごとの豊凶が激しく、採苗の失敗がその後の生産に大きく影響する。本研究は生産安定化のための技術開発をおこなうことを目的とし、人工採苗技術の開発およびそれに関連する研究をおこなった。

河川規模の異なる2河川(吉野川、日和佐川)でのスジアオノリの分布、消長を調査した。2カ年に渡る生態調査で、スジアオノリは、冬から春にかけ繁茂し、夏には消滅することが分かった。降水量の少ない年では河川水の塩分が高くなるため、夏季の繁茂期間が長くなる傾向にあった。また、大河川の吉野川(流長193km)では年間の塩分変動が少ないため冬から春までの連続した繁茂となりやすく、塩分変動の大きい小河川の日和佐川(流長20km)では、繁茂期が明瞭に分離した。繁茂期の分離

と繁茂期間の長さは塩分環境に影響されていることが推察された。四万十川(高知県)でも明瞭な繁茂期の分離が報告されており(Ohno and Miyanoue 1980, 大野・高橋1988),これは大河川でありながら塩分変動が大きいためであると考えられる。

四国内の4河川(吉野川・日和佐川・仁淀川・四万十川)のスジアオノリを採取し、放出された遊走細胞の鞭毛数の確認、培養、交雑試験、走光性試験をおこなうとともに、顕微分光測光により細胞核のDNAの相対蛍光値を測定し、3種類の生活史型を決定した。すなわち、1)四万十川と日和佐川の藻体に見られた2本鞭毛の配偶子と4本鞭毛の遊走子を放出する有性生殖を行うタイプ。2)吉野川、日和佐川、仁淀川の藻体に見られた2本鞭毛の遊走子を放出する無性生殖を行うタイプ。3)吉野川、仁淀川の藻体に見られた4本鞭毛の遊走子を放出する無性生殖を行うタイプである。

スジアオノリ藻体を人為的に成熟誘導し、人工採苗をおこなうための藻体細断片のサイズ、温度、塩分、光量についての最適条件を明らかにした。それによると、細断片のサイズが小さくなるほど成熟が促進され、直径0.9mmに切り出した円形の組織片が最も高い成熟度を示した。培養温度は20～25℃で最も成熟が促進され、それよりも高温、または低温で成熟度は低下した。成熟に最適な光量は $16\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上であり、通常屋外で成熟促進をおこなう場合には支障のない光量であった。成熟のための好適な塩分は5～52psuであるが、生殖細胞の放出に好適な塩分は13.2～45.3psuと塩分濃度の範囲が狭まった。生殖細胞の放出は成熟に引き続いて起こるが、塩分条件によっては放出まで完了しないことがあることが分かった。また、切断藻体片の組織培養によるスジアオノリの種苗作成をおこなうための仮根分化誘導に最適な細断片のサイズ、温度、塩分、光量の条件を明らかにした。直径0.9mmの細断片サイズを除き高い仮根形成率がみられた。0.9mmサイズは、短時間で組織片全体が成熟するため仮根を形成することがなかった。15℃以下では高い仮根分化率となったが、20℃以上では仮根分化率は低下した。塩分1.6～52.0psu、光量8～ $160\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ の範囲で高い仮根分化率がみられた。

天然でのスジアオノリの現存量の増減の原因を解明することや人為的成熟誘導をおこなうためには、スジアオノリの成熟機構を明らかにすることが必要である。スジ

*1徳島県農林水産部水産課(Fisheries Division, Agriculture, Forestry and Fisheries Department, Tokushima Prefecture Government, 1-1 Bandai-Cho, Tokushima-Shi, Tokushima Prefecture 770-8570 Japan)

アオノリ藻体を摩砕濾過し、海水で数段階に希釈した濃度勾配を持った濾過液を含んだ培地を作成した。これに、スジアオノリ藻体から切り出した組織片を入れ、3日間培養した後、組織片の成熟面積を測定した。組織片を利用したバイオアッセイにより、濾液濃度が高いほど成熟部位の面積が小さくなることが明らかとなった。このことから、藻体中に孢子形成を阻害する物質が存在することが示唆された。さらに、組織片を利用したバイオアッセイを利用して、成熟阻害物質が藻体のどの部分に多く存在するのか、またスジアオノリが発芽から成葉までの成長過程でどの時期にどの程度産成されるのか調べた。その結果、藻体の管状構造の内側に多く蓄積することが明らかとなった。藻体に物理的に傷を与えた場合とか細断により藻体を切片とした場合に成熟が起こるのは、管内に蓄積した成熟阻害物質が流出するためであると推察された。また、成熟阻害物質は藻体の増殖期に多く生産蓄積され、成熟が起きた場合には減少した。このことは、潮汐による波動や干出などの物理的刺激、水温、塩分、光量などの藻体を取り巻く環境要因など何らかの原因により藻体内にある成熟阻害物質の濃度が低下した場合に成熟が引き起こされ、その結果、現存量が減少すると考えられた。

スジアオノリ藻体が生産する物質が、スジアオノリ初期形態に及ぼす影響について調べた。藻体を摩砕濾過した濾液を生殖細胞、発芽体、幼葉を入れた培養液に添加した。この結果、藻体の成長を抑制する働きを示し、藻体の栄養細胞を假根細胞へ分化誘導する働きや分枝を増加させる働きを示した。このことは、摩砕濾過液を利用することで、藻体細断片を使った組織培養による假根分化を促進させ養殖用種苗を作成したり、収穫後の養殖網に残った藻体から分枝を誘導し、再度養殖種網に利用する技術に応用できるものと考えられた。

人工採苗をおこなうに当たっての具体的な項目についての検討をおこなった。まず、人工採苗をおこなうための母藻の保存は、5℃の湿潤状態で4ヶ月間保存できることが分かった。成熟促進のための培養水の量と母藻の量との関係は、100lの培養水に100gを超えて入れると成熟阻害が起こることが分かった。藻体から放出された遊走細胞の遊泳時間は、水温が高くなるほど、塩分が低くなるほど短くなった。光量に関しては、暗黒であると遊泳時間が長くなったが、 $5 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上では一定の遊泳時間となった。人工採苗では、開始後2時間では遊走細胞の基質への着生はみられず、採苗には3時間以上必要であることが分かった。養殖漁場において、天然採苗と人工採苗による養殖試験を実施した。天然採苗場の塩分が3.3~4.3psuと非常に低い場合には天然藻体からの遊走細胞の放出はほとんどなく天然採苗はおこなえなかった。しかし、人工採苗した種網は順調に成長し収穫まで

至った。人工採苗は、何らかの原因で天然での遊走細胞の供給が減少した場合、有効な方法であることが確認された。

スジアオノリ養殖種網の保存技術の研究をおこなった。スジアオノリの着生した網を入庫するための生殖細胞および幼葉の保存条件を明らかにし、それに基づいた野外での養殖試験を実施した。5~10℃の冷蔵温度で、光がない状態で保存することが生残及び出庫後の成長に良いことがわかった。また、実用面から判断すると培養水には入れずに、湿潤状態での保存が優れていると判断された。入庫時の葉体の大きさは、室内実験では、採苗直後の生殖細胞の段階から75.5mmの大きな葉体まで、35日間の保存が可能であったが、野外での養殖試験では15mm以上の葉体では保存中に死亡した。このため、スジアオノリ種網の最適保存サイズは採苗直後の生殖細胞段階から2~3mm幼葉までであることがわかった。

養殖管理技術の研究として、天然採苗場での干出操作の必要性の検討をおこなうために網糸上の芽数と収量との関係を調査した。その結果、1cmの網糸当たり150本以上の芽数があれば一定の収量となり、それ以上芽数が増加しても収量に影響しないことが分かった。このため、干出操作をおこない過剰な芽を減らす必要はないと考えられた。また、養殖漁場での適正な養殖水深を調査した。その結果、水面直下に張り込んだ網での成長は見られなかったが、水深90cmまで良好な成長が確認された。このことから、吉野川スジアオノリ養殖漁場では、表層を除き濁りの影響により成長が悪くなる水深は90cm以深であると推察された。

徳島県でのスジアオノリ人工採苗技術が開発されて養殖漁業者への普及が開始されたのが1994年である。このため、5カ年経過した1999年に技術の評価をおこない、今後の研究に役立てることを目的に養殖漁業者に対しアンケートをおこなった。その結果、全生産量のうち人工採苗によるものの割合は17~61%であった。天然採苗との比較では、1網当たりの収量の差はほとんどなかった。55%の人が今後人工採苗をおこなうと回答した。また、人工採苗をおこなっていると回答した人のうち、その用い方として天然採苗との併用、または時期によって使い分けるといった回答が86%あった。このことは、人工採苗技術が漁業者に定着し、漁業者自身が自分に合った方法に改良されている結果であると思われる。

緒 論

緑藻のなかでアオノリ類 *Enteromorpha* spp. はヒトエグサ類 *Monostroma* spp. と並んで有用な食用海藻である。アオノリは、掛け青海苔、もみ青海苔、粉末青海苔としてお好み焼きや菓子類などに利用されることが多いが、従来からの利用に加えて近年ではインスタント食品の普及により需要が高まっている。

アオノリの主産地は徳島県、高知県、山口県、岡山県、和歌山県などの西日本に多いが、千葉県でも板状に加工したアオノリが生産されており、正月には雑煮に入れて食べる習慣がある。アオノリに関する全国的な生産統計は整備されていないが、流通業者からの聞き取りを基に推計すると300トン（乾燥重量）程度ある（團1992）。

このうち、スジアオノリ *Enteromorpha prolifera* は150トン、残りはウスバアオノリ *E. linza* やヒラアオノリ *E. compressa* などである。愛媛県の懸灘西部では、アマノリ類 *Porphyra* spp. の養殖が終わった後、ウスバアオノリ、ヒラアオノリなどを同じ養殖漁場で引き続いて栽培しており、年間生産量は140トン（乾燥重量）程度あるとされている（愛媛中予水試東予分場1999）。徳島県では吉野川を中心に河口域でのスジアオノリ養殖が盛んであり、スジアオノリの生産量（60～70トン）は日本一である。吉野川（大野・松岡1992）、四万十川（大野ら1999）、山口県下の主な河川（河本・門永1988）では天然スジアオノリの生産量が近年激減していると報告されている。

このうち、吉野川では濁りなどによる水質の悪化により天然の生産量が減少したとされており（大野・松岡1992）、生産は全て養殖に切り替わっている。徳島県以外でも岡山県（豊田1997）、山口県（河本・門永1988、1990b）、千葉県（平田2000）でスジアオノリ養殖がおこなわれており、天然での採取量は減少している。アオノリ類は比較的新しい養殖種であるため、アマノリ類のように古くから養殖技術の研究がおこなわれた事例は少なく、養殖漁場におけるスジアオノリの着生、生育状況（河本・門永1988、1990a、1990b）、アマノリ養殖技術の研究の中でアオノリ駆除のための研究（八栖ら1955、新崎1957、大津ら1959、高山ら1983）がおこなわれた程度である。アオノリ類の養殖技術は漁業者の経験に基づいて発展してきたものであるため生産量は自然条件に大きく左右されていた。このため、本研究ではスジアオノリ養殖を安定化させるための養殖技術の開発を目的におこない、人工採苗と種網の保存技術の開発および関連する基礎的研究をおこなった。

本研究の第1章において、吉野川を中心とした徳島県のスジアオノリ養殖の現状として漁場利用の歴史的経緯、養殖方法、漁場環境などの概要を述べ、課題を抽出することにより、どのような方向でこの研究を進めるべきか

を検討した。第2章において徳島県の2河川（吉野川と日和佐川）での水温、塩分がスジアオノリの季節消長に及ぼす影響を述べるとともに、四国内4河川で採集されたスジアオノリから放出された遊走細胞を用い培養、交雑試験、走光性試験をおこなうとともに、遊走細胞と栄養細胞の顕微分光測光により核DNAの相対蛍光値を求め、生活史を明らかにした。第3章では、スジアオノリの人工採苗技術の基礎となる成熟誘導条件について述べた。アオサ類では、藻体を細断することにより成熟誘導ができることが知られている（Nordby and Hoxmark 1972, Hiraoka and Enomoto 1998）。スジアオノリの藻体を細断した組織片を用い、細断サイズ、温度、塩分、光量について最適な成熟誘導条件を検討した（團ら1998, Dan *et al.* 2002）。また、第4章では、スジアオノリの成熟に大きくかかわっていると考えられる藻体に含まれる成熟阻害物質について、その存在部位、産生時期について述べた。第5章においては、スジアオノリ自身が生産したと考えられる物質がスジアオノリの成長および仮根、分枝の形成などの形態形成への影響を調べることにより、今後の養殖技術への応用のための基礎的知見を得た。第6章では、人工採苗技術として藻体細断による成熟誘導による採苗方法について述べた（團ら1997, 團ら2001）。さらに、種網の保存についても個々の保存条件について検討を加え、冷蔵による保存方法について述べた。第7章では、本研究で開発された技術について現場の養殖漁業者へアンケートを実施して定着度を把握した。最後に、第8章において本研究全体についての総括をおこなった。

目 次

要 約	1
緒 論	3
目 次	4
第1章 徳島県のスジアオノリ養殖の現況.....	6
1. アオノリ養殖の概要	6
2. 徳島県のスジアオノリ養殖漁場環境の概要	8
3. 徳島県のスジアオノリの養殖の課題と展望	10
第2章 スジアオノリの生態	11
第1節 規模の異なる2河川でのスジアオノリの生態	11
第2節 四国内の4河川でのスジアオノリの生活史	17
第3章 成熟と仮根形成に及ぼす環境要因の影響.....	23
1. 細胞片のサイズ・温度	
2. 塩分濃度・光量	
3. 藻体の基部から先端部までの遊走細胞放出の割合	
第4章 成熟機構.....	31
実験1. 成熟阻害物質の存在	
実験2. スジアオノリの藻体管状構造における胞子形成阻害活性の分布	
実験3. スジアオノリ幼体の培養条件と胞子形成阻害活性の関係	
実験4. 野外養殖藻体の成長と胞子形成阻害活性との関係	
第5章 藻体抽出液が初期形態形成に及ぼす影響	38
実験1. 藻体抽出濾液が発芽に及ぼす影響	
実験2. 藻体抽出濾液が発芽体の形態に及ぼす影響	
実験3. 藻体抽出濾液が幼葉に及ぼす影響	
第6章 生産安定化技術	44
第1節 人工採苗技術	44
1. 人工採苗に用いる藻体の保存	44
2. 人工採苗のためのタンク投入藻体量	45
3. 水温, 塩分, 光量が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響	46
4. 人工採苗における胞子着生時間の検討.....	47
5. スジアオノリの人工採苗の手順	48
(1) 水温制御方式による採苗法	48
(2) 非水温制御方式による採苗法	49
6. アオノリ養殖における2種の採苗法の比較.....	50
第2節 種網の冷蔵保存技術の開発.....	55
1. 幼葉保存における光, 水分, 温度の影響	
2. 葉体の成長段階と湿潤・暗処理の関係	
3. 育苗期葉体での冷蔵保存	
4. 生殖細胞段階での冷蔵保存	

第3節 養殖管理技術の開発	61
1. 種場での管理	61
2. 養殖漁場での管理	62
第7章 アオノリ養殖技術の総括	63
第8章 総合考察	67
Summery	69
文 献	72
付 表	75

第1章 徳島県のスジアオノリ養殖の現況

1. アオノリ養殖の概要

徳島県の河川で養殖されているアオノリの種類はスジアオノリであり、年間生産量は60～70トン（乾燥重量）である。スジアオノリの生産量では徳島県は全国一である。生産の中心は県北部にある吉野川で、他にその周辺の今切川、勝浦川でも養殖が行われている。また、県中央部にある那賀川、県南部の日和佐川、牟岐川などでは天然スジアオノリの採取が行われているが、県北部の養殖生産量に比べ遥かに少なく、徳島県でのスジアオノリの生産は、吉野川での養殖生産が大部分であるといえる。

吉野川におけるスジアオノリ養殖業の経営体数は約130経営体ある（2000年徳島県漁連）。養殖をおこなっている漁業組合は7漁協あり、養殖漁場は図1-1に示した吉野川河口域であり、8km上流にあるJR高徳線鉄橋より下流側にある。

吉野川の河口域では1960年頃までアマノリ類、1988年までヒトエグサ類の養殖がおこなわれていたが、その当時はアマノリ、ヒトエグサ養殖にとってスジアオノリは害藻という位置付けであった。1970年頃から少数の養殖業者によってスジアオノリ養殖が始められ年間10トン（乾燥重）程度の生産をあげていた。1983年に河口に近い3漁協が本格的に生産を開始し、まもなく他漁協も生産を始めて20～30トンの生産量となった（図1-2）。1985年には、河口より4～5km上流にあったスジアオノリ養殖漁場が、河口より2～3km上流のヒトエグサ養殖漁場まで拡大するとともに、それまでの杭柵方式養殖で利用できなかった水深の深い未利用漁場での浮流し式養殖が可能となったため、年間30～40トンの生産量をあげるようになった。1985年以降も着業者数、張り込み枚数の増加に加えて冷風乾燥機などの加工機械の導入により生産量は増大し、現在では年間60～70トンの生産量となっている。

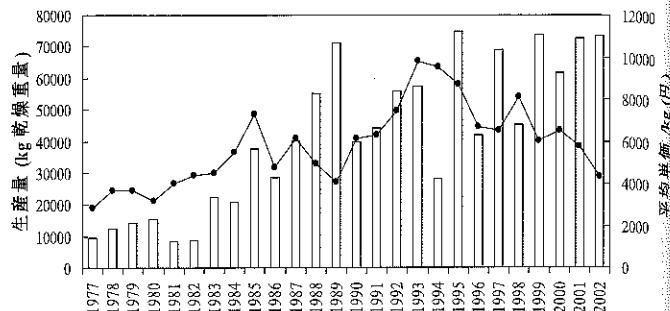


図1-2 1977年から2001年までの徳島県におけるスジアオノリの生産量(□)と平均単価(●)の推移

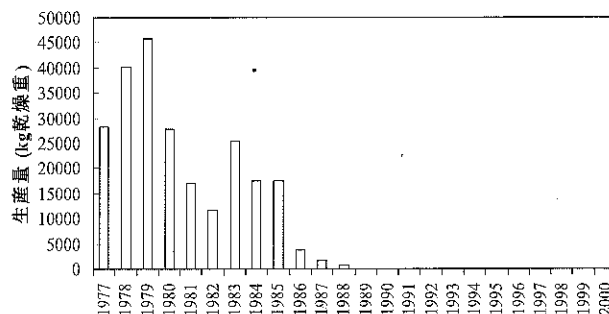


図1-3 1977年から2000年までの徳島県におけるヒトエグサの生産量の推移

図1-3に吉野川のヒトエグサの生産量を示した。スジアオノリの生産量が急激に増大する1985年から、ヒトエグサ生産は大幅に減少し、ついに1989年は生産されなくなった。また、図1-4にスジアオノリ、ヒトエグサ、アマノリ類の平均単価の推移を示した。ヒトエグサ1枚を4.0g、アマノリ1枚を2.8gとしてキログラム当たりの単価に換算し比較した。また、アマノリは徳島県漁連の共販平均単価を使用した。ヒトエグサからアオノリに変わったのは漁場環境の変化によりヒトエグサの養殖が行えなくなったこともあるが、ヒトエグサ価格の低迷により高価格のスジアオノリへと生産が移ったという見方もできる。すなわち図1-4にあるように、スジアオノリ、ヒトエ

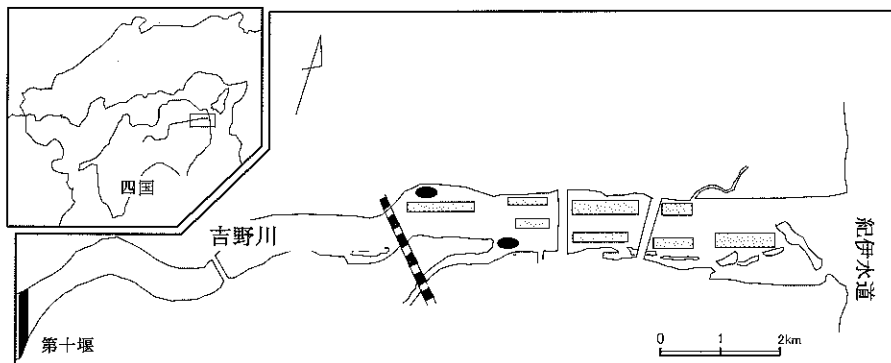


図1-1 徳島県吉野川河口域でのスジアオノリの天然採苗場と養殖場。▨, 養殖場; ●, 採苗場

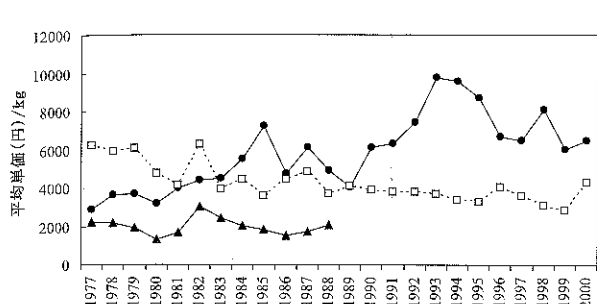


図 1-4 1977年から2000年の徳島県におけるスジアオノリ(●), ヒトエグサ(▲), アマノリ(□)の平均単価の推移

グサの単価差が1983年頃までは1.2～2.4倍であったものが、1984年以降2.7～4.0倍まで差が拡大したことで、アマノリの単価の長期低迷傾向により、アマノリの下級品による佃煮原料としての代替によりヒトエグサの需要が減少し、その結果ヒトエグサの価格の上昇が押さえられたことも原因していると考えられた。

吉野川でのスジアオノリの養殖は、10月上旬に図1-1に示した河口から6～8km上流にある種場と呼ばれる天然採苗場に新しい養殖網(1.8×20m)を張り込むことから始まる(図1-5B)。種場の底質は河床が小石混じりの砂地であり、ここに竹杭を打ち込み養殖網10～15枚重ね



図 1-5 スジアオノリの2種類の養殖方法 A, 浮き流し式養殖方法 B, 杭柵式養殖方法

で張る。種場の立地条件としては、杭を打ち込むことができる浅い水深で、ある程度広い面積が確保できる場所である。夏が終わり、水温が低下してくると近辺の礫に白生している越冬した微小な大きさの天然スジアオノリから遊走細胞が放出されるため、これを網に附着させ数ミリの藻体になるまで育苗し、下流にある養殖漁場へ移動、養殖セットへ張り込む。種場での河床から種苗網(重ね網)までの高さは養殖業者によって異なるが、10～50cmの範囲である。低く張るほど、早く多くアオノリ遊走細胞が附着し、高いと干出が効いて薄い芽付きとなる。

養殖は、水深が浅い場合には支柱張り方式で、支柱張りが出来ない場所は浮流し方式となる(図1-5)。種場から養殖漁場へ移動後3～5日は5枚重ね網のままセットへ張り込む方が、最初から単張りでおこなうよりも成長が速いと言われている。浮き流し漁場での養殖網の張り込み水深は、冬漁期(10～12月)には水面下50cm、春漁期(4～5月)では水面下20～30cmとなる。春漁期が冬漁期に比べ浅くなっているが、春は水温の上昇が急激であり、スジアオノリが短期間に急激に成長するため、藻体の重量により養殖セット自体が沈下するためである。

冬漁期では、水温が15～20℃であると養殖セットに張り込んでから2～3週間で約20～50cmに成長し、収穫される。水温が、上記水温帯をはずれると収穫までの期間が長くなり収穫に至らない場合がある。

摘採方法は、アマノリ類で行われている高速回転カッターで刈り取る場合と手で摘みとる方法がある(図1-6)。カッターで刈り取った場合は、後の成長が悪くなるので種網を交換することが多い。手で摘みとる場合は、1網から2～3回収穫することができる。

摘採後の原藻は、洗浄機で洗いエビ等の夾雑物が除かれ、脱水、ほぐしの工程の後、セイロに並べてから乾燥機に入れ加工される。冷風乾燥であると、朝6時頃から摘採を始めて、乾燥機に入れ終わるのが午後2時頃となり、1日の作業は終了する(図1-6)。

スジアオノリの加工形態としては、大きく分けて原藻のまま乾燥させる場合と、高温風により急速に乾燥させ、粉碎し青粉といわれる粉状にする場合がある。原藻の形態では、天日乾燥、冷風乾燥、温風乾燥、風力乾燥(低温温風乾燥)の4形態に分けられる。また、徳島県漁連共販も、これに応じて5形態に区分され入札がおこなわれる。単価の高い方から順に、天日、冷風または風力、温風の順になる。天日干しと機械乾燥とでは単価でkg当たり1000円から2000円天日干しが高い。しかし、天日干しの生産は天候に左右され易く、生産性は機械乾燥が優れており、収穫期間の短いスジアオノリ養殖にとって生産量を増大させるためには機械乾燥を導入する必要があった。

流通形態としては共販体制がとられており、組合にそ

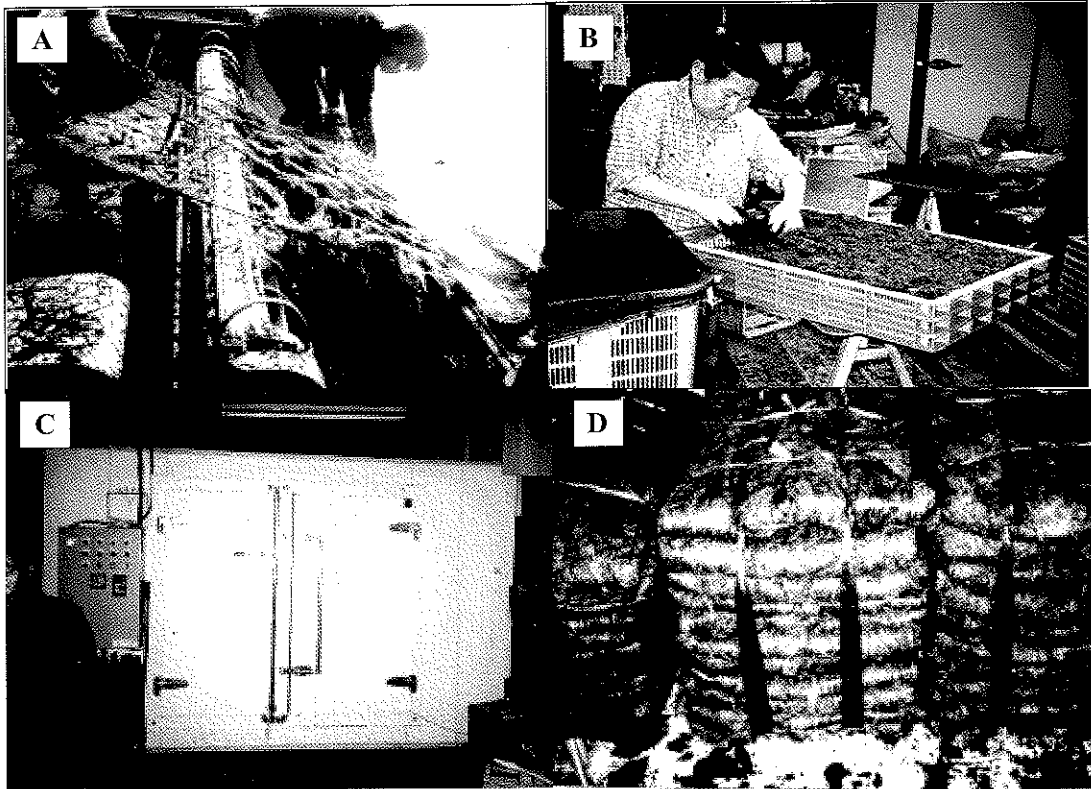


図1-6 スジアオノリの生産 A, 浮き流し式養殖方法における収穫風景 B, ほぐし作業 C, 冷風乾燥機 D, スジアオノリの製品

れぞれ集荷された後、漁連で入札にかけられ、業者に引き取られる。業者は需要、用途に応じて調整加工して流通させる。1989年は過去最高の豊作であったが、単価は1983年頃の単価まで急落した(図1-2)。このため、県漁連では単価の下落を防ぐため、1990年から、10社であった入札業者を19社に増やした。この結果、1992年まで生産の増大とともに単価の上昇が続いた。しかし、最近の落札量の内訳をみると上位4社で全体の3分の2が買われており、ほぼ寡占状態となっているため、今後の単価の上昇は期待できない状況となっている。

徳島県産のスジアオノリは現在、高単価を維持しているが、これは徳島県漁連共販が全国で最も量がまとまっており、その結果、多くの入札業者が集まるからである。このため、単価が上昇すれば、生産者も増産し共販量が多くなるという相乗効果をつくり出している。

2. 徳島県のスジアオノリ養殖漁場環境の概要

吉野川河口域でのスジアオノリ養殖漁場の水質環境については、徳島県水産試験場において継続的に調査がおこなわれている(北角ら1991, 湯浅ら1997, 湯浅ら1998, 高木ら1999, 高木ら2000, 天真ら2001)。調査は9~5月に河口から8km上流にあるJR鉄橋より下流側にある養殖

漁場の水深別の水温、塩分、濁度を測定している。

水温は、1995年の9月から1996年の5月までの塩分調査時に同時におこなったデータ(図1-7)では、9月に22~23℃であったが、その後順調に降下し1~3月には10℃以下となった。そして、5月には再び18℃まで上昇した。水深による温度差はほとんどなく、表層から低層まで均一な温度であった。

図1-8に、1977年9月から1978年3月までB地点(図1-1)で毎日午後4時に観測した水温と比重の推移を示した(日本水産資源保護協会1978)。台風などによる増水で一時的に低塩分化が起こるが、河口域の漁場の塩分は速やかに回復することが特徴的である。図1-9は、1995年

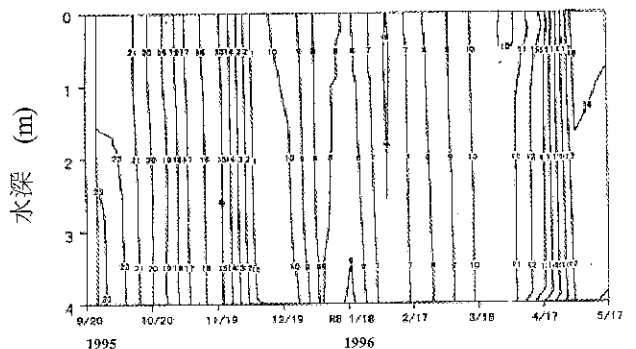


図1-7 1995年9月から1996年6月までの、吉野川における水深別の水温の推移

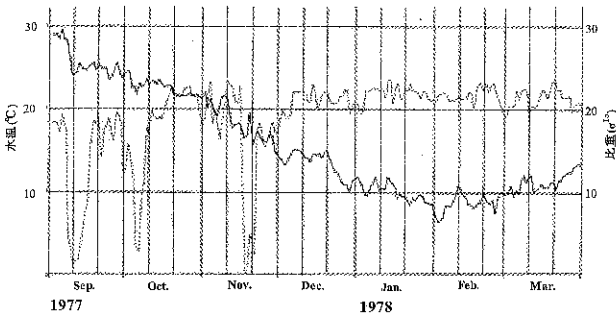


図1-8 1977年9月から1978年3月までの、吉野川河口における水温(—)と比重(⋯)の推移

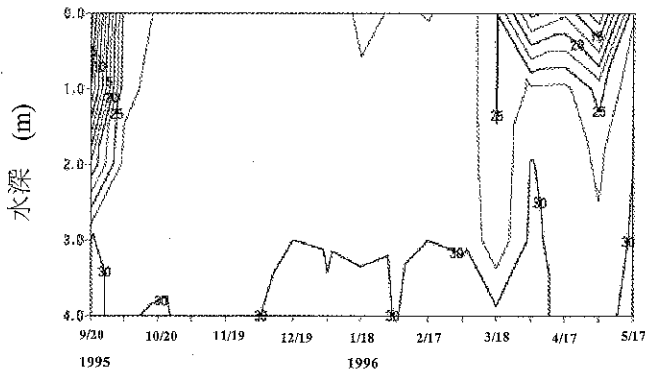


図1-9 1995年9月から1996年5月までの、吉野川河口域における水深別の塩分の推移

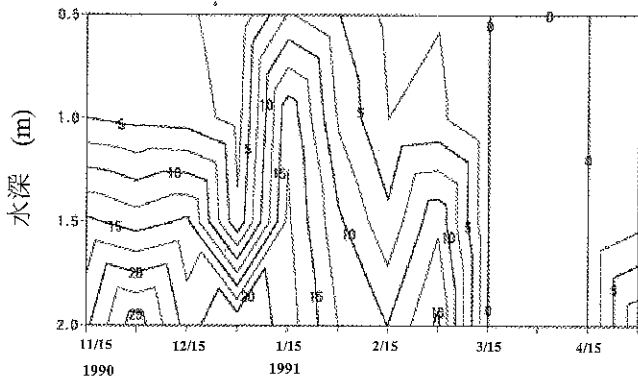


図1-10 1990年11月から1991年4月までの、四万十川河口域における水深別の塩分の推移

の9月から1996年の5月までの図1-1のA地点での水深別の塩分の推移を示した。ほとんどの調査は大潮の下げ潮時におこなわれている。秋(9月)と春(4~5月)には表層(水深2 m以浅)で塩分の低下(5~15 psu)が見られたが、水深3 m以浅でも25~30 psuの範囲の塩分で安定していた。吉野川との比較として、図1-10に1990年11月から1991年5月まで四万十川の河口より3.5 km上流の天然スジアオノリが繁茂している場所での水深別の塩分の推移を示した(大野ら1999を改変)。調査は毎

月大潮干潮時におこなわれている。四万十川の生産地は吉野川と比べて全期間を通じて低塩分であり、特に3~4月は上層から下層まで完全に淡水化している期間が長く続くことが特徴的である。この理由としては、吉野川では比較的深い水深が上流まで続き海からの塩水楔が形成されやすいのに対し、四万十川では水深が浅いため海からの影響が吉野川よりも少ないためと考えられる。

吉野川河口域のアオノリ養殖漁場の塩分特性について整理すると、塩分は平常時には25~30 psuの範囲で安定しているが、降雨による増水の影響を受け低塩分化する場合がある。しかし、塩分の低下は一時的なものであり速やかに回復する(図1-8,9)。また、塩分の垂直的分布をみると底層は常に海水に近い塩分となっており、潮汐による影響を受けた海水楔が形成されていると推測される。増水による低塩分化の場合も、四万十川のように底層まで淡水とはならず、底層では極端な塩分の低下のない安定した塩分環境を作っているといえる(図1-9)。

栄養塩については、1988年1~5月に吉野川養殖漁場で実施した調査では、DINで11.9~185.4 $\mu\text{g-at/l}$ 、 $\text{P}_0\text{-P}$ で0.05~5.82 $\mu\text{g-at/l}$ であった(北角ら1991)。四万十川では、DINで12.3~46.0 $\mu\text{g-at/l}$ 、 $\text{P}_0\text{-P}$ で0.2~1.9 $\mu\text{g-at/l}$ であった(大野・高橋1988)。河川の栄養塩は流域の農地、工場排水、家庭排水から供給される。吉野川は、四万十川に比べ、これら人の活動に伴う栄養塩の供給が大きいことを現していると推察された。

図1-11に、吉野川中央橋流量観測所における4月から9月までの日平均流量の合計値と徳島県のスジアオノリ年間生産量との関係を示した。これによると、春から夏にかけての流量が多ければ、その年の生産量は多くなる正の相関が見られた。漁業者の経験則からは吉野川のスジアオノリ養殖で夏に雨が少なくと収穫量が少なくなると言われている。しかし、漁期前の春から夏までの流量の増加(降水量の増加)が何故生産量の増大に結びつ

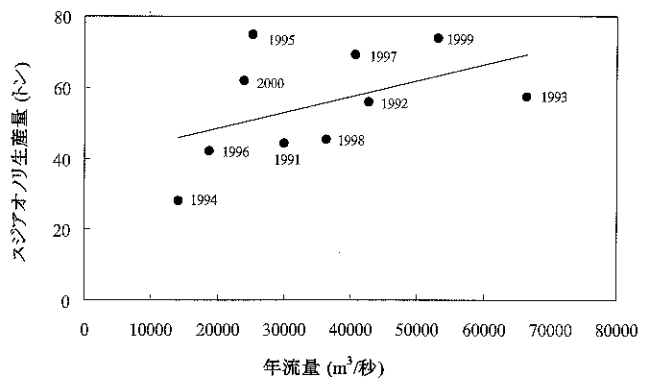


図1-11 吉野川中央橋(河口から40.2 km地点)での流量と徳島県におけるスジアオノリの年間生産量との関係。年流量は4月から9月までの平均日流量の積算値を示している。

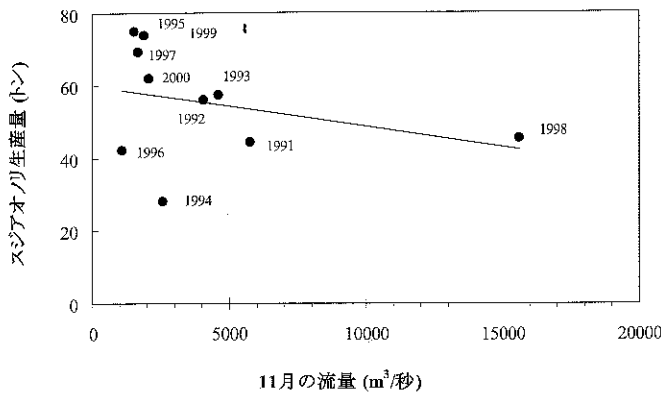


図1-12 吉野川中央橋（河口から40.2km地点）での11月の流量と徳島県におけるスジアオノリの年間生産量との関係。11月の流量は月の平均日流量の積算値を示している。

くのかは不明である。逆に、養殖期間中の11月の流量が大きいと生産量は下がる傾向がみられた(図1-12)。Ohno and Miyanoue (1980)も、四万十川での天然アオノリの収穫量は10月から12月までの降水量が多いと減少すると報告している。養殖期間中の流量の増加、即ち漁場の低塩分化は養殖中の藻体の成熟、流出を引き起こす (Dan et al., 2002) ため収量が減少することが推察された。

3. 徳島県のスジアオノリ養殖の課題と展望

1) 漁場面積

スジアオノリの生育範囲は河口から14km上流の第十堰下までであるが、漁業調整規則により養殖漁場は河口と河口から8km上流のJR高德線鉄橋の間となっている。漁期は10～5月までとなっているが、河口から4～5km地点にある吉野川橋から上流の漁場はシジミ漁との関係で漁期が10～3月と短くなっている。また、吉野川河口周辺の海面は、アマノリ養殖の好漁場となっており、スジアオノリ養殖が、そこまで進出することは養殖方法の違い等種々の問題があって難しい。このように、平面的な漁場面積拡大による生産量の増大は図れない状況にある。

2) 養殖期間

スジアオノリの養殖期間は10月から翌年の5月までである。しかし、実際には10～12月の冬漁期と4～5月の春漁期に分かれ、1～3月の間はスジアオノリの成長が悪く、ほとんど養殖されることはない。

スジアオノリの生育環境条件について検討してみると吉野川での漁期中の水温は、冬漁期(10～12月)で22～12℃、春漁期(4～5月)で12～23℃である。漁業者の経験では水溫16～17℃、塩分24～28psuあたりが最も伸びがよいとされている。室内培養により、水溫、

塩分濃度を違えたスジアオノリの初期成長に対する影響が調べられているが、それによると水溫20℃、塩分24.5psuが最も成長が良い結果がでている (Htun et al. 1986)。

塩分については、徳島県水産研究所の調査では10～5月で12～28psuの範囲にあり、1月から3月までの漁閉期の塩分(25～28psu)についても問題はないと言える(北角ら1991)。水溫については、1月から3月までは吉野川では10℃を下回っており、室内培養の結果(平岡ら1999)によると10℃では成長が悪く、この間に収穫できないのは水溫の制限を受けているためであると考えられる。スジアオノリの成長にとり適水温帯は15～20℃の範囲にあるが、春期と冬期の河川内での温度変化は著しいので、スジアオノリが成長し収穫されるまでの漁期が年により変動があるという問題点がある。スジアオノリは、アマノリ類に比べ単価は比較的高いが、生産期間が短いため生産量、金額とも劣っている。今後生産を増大させるためには、幅広い水温帯で養殖可能な品種の開発が必要となってくるであろう。

3) 採苗の安定性

スジアオノリの養殖は、天然採苗によって行われているが、天然での遊走細胞放出量が少なく十分な芽付きの網ができなるとか、スジアオノリ以外の藻類が混じるなどの不安定な要素が多い。このため、漁業者は養殖漁場で使う数の数倍もの網を種場に張りこみ、そのうち良好な網を選んで養殖に使うという効率の悪い方法をとっている。安定的なスジアオノリ養殖を行うためには、スジアオノリだけを採苗するための人工採苗の技術開発が必要となってくる。これまで、アオノリ類の人工採苗では、自生藻体を採取し、1～2日間水切りをし、暗処理をおこなった後、海水に戻し胞子液を得ている (Pandy and Ohno 1985)。また、簡便な方法として採苗水槽内に母藻と養殖網を入れ1週間ほど培養し採苗する方法がある (大野ら1992)。しかし、どちらの方法も確実性が低く、より効果的な人工採苗法の開発が望まれている。

4) スジアオノリの市場規模

徳島県漁連共販での共販量と平均単価を見ると、生産量が60～70トンを超えると単価が下落することが分かる(図1-2, 4)。スジアオノリは高価格な養殖種であるが、市場規模が小さいため価格変動が著しい性格を有している。今後は、新たなアオノリの用途の開拓と需用の拡大を図るために食品としての利用方法を広げるだけでなく、藻体からの有用物質の抽出、環境浄化のためのバイオフィルターとしての利用(小松ら1994)、バイオマスエネルギーへの材料供給などの検討が必要でないだろうか。

第2章 スジアオノリの生態

スジアオノリ *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh は、日本各地、朝鮮半島、太平洋、インド洋、大西洋、オーストラリアなど世界中の海に分布する普遍種である(吉田 2000)。河口及びそれに続く内湾などの淡水の影響のある静かな海に多産するが(瀬川 1956)、高知県四万十川では 0.3 psu という低塩分から 33.1 psu という海水に近い塩分になる場所まで繁茂しており(大野ら 1988)、広塩性がある特徴のひとつである。スジアオノリ生育の季節消長について、高知県四万十川(大野・高橋 1988, 大野ら 1999)、高知県新荘川(Ohno and Miyanoué 1980)で調べられており、1~2月の冬期と5~6月の春期に繁茂期があると報告されている。スジアオノリが生育する河口域は、陸水や海洋と比べ環境要因の変動が非常に大きいことが特徴である。また、河川規模によっても環境が大きく変わることが考えられ、特に塩分変動の違いは、そこに生活するスジアオノリの生育生態に大きく関与するものと思われる。本研究では、第1節で大河川である徳島県吉野川河口域と小河川である徳島県日和佐川について、スジアオノリの季節消長と環境要因との関係を比較検討した。第2節においては、吉野川と日和佐川に加え高知県の四万十川と仁淀川のスジアオノリの生活史を培養、交雑試験と栄養細胞の核内の顕微分光測光 DNA 分析により決定した。

第1節 規模の異なる2河川でのスジアオノリの生態

調査方法

大規模河川として徳島市で紀伊水道に流入する吉野川河口域を、小規模河川として徳島県海部郡日和佐町で太平洋へ流入する日和佐川河口域を選定し、吉野川では、Sta. 1 (河口より 14 km 上流, 左岸), Sta. 2 (13 km, 左岸), Sta. 3 (7.7 km, 左岸), Sta. 4 (4.8 km, 左岸)、日和佐川では、Sta. 5 (河口より 1.25 km 上流, 右岸), Sta. 6 (1.04 km, 左岸), Sta. 7 (0.75 km, 左岸)を調査地点に定めた(図 2-1)。調査は、2000年3月から2002年5月まで、吉野川では1~2ヶ月に1回、日和佐川では毎月2回の大潮の干潮時におこなった。スジアオノリが最も多く繁茂している部分の、50 cm 枠内の被度を Penfound and Howard (1940)の方法に従い被度階級をもとめた。藻体長については、25×25 cmの枠内の藻体を採取し、枠内の上位20本の藻体長を測定し平均値と標準偏差を求めた。なお、吉野川の藻体長の測定は2001年11月から開始した。また、日和佐川ではSta. 5において、河川内に放出された遊走細胞の量を推定するために、2000年7月から2001年8月まで付着基質として直径2mmのビニロン糸(クレモナ)を毎月1回の大潮の期間に河床付近に設置し、4日間後に回収した。その後PES培地で1週間培養した後、1 cm 当たりのスジアオノリ発芽体を計数したものを、周辺の自生スジアオノリ藻体から河川水へ放出された遊走細胞の相対的な放出量とした。環境要因としては、毎月2回の調査時に気温と各地点の表層水の水温をデジタル温

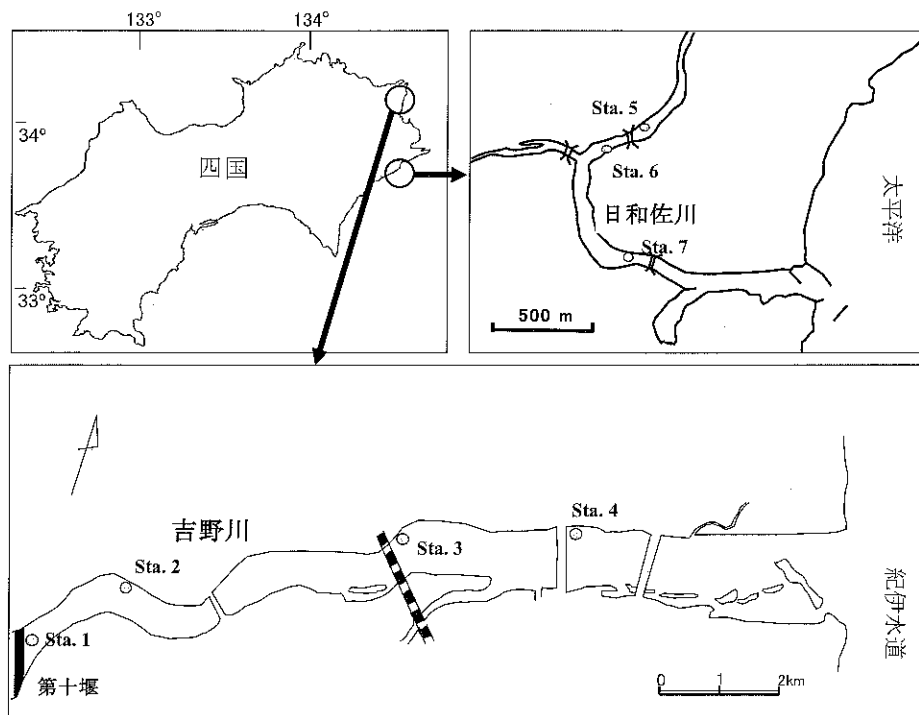


図 2-1 吉野川の調査地点は、図に示した Station 1 から 4 までの 4 地点、日和佐川の調査地点は Station 5 から 7 までの 3 地点

度計 (SK-250WP, 佐藤計量器製作所) で、塩分は表層水を採水後、研究室へ持ち帰りサリノメーター (T.S Digital Lab., 鶴見精機社) で測定した。

結果

水温塩分の変化

吉野川: 図 2-2 に気温と各調査地点の表層水温の推移を示した。水温は地点ごとの差はほとんどなく、1月に年

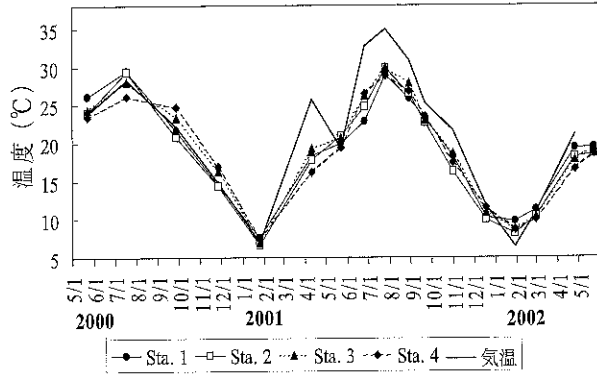


図 2-2 2000年5月から2002年5月までの吉野川の各調査地点での水温及び気温の季節推移

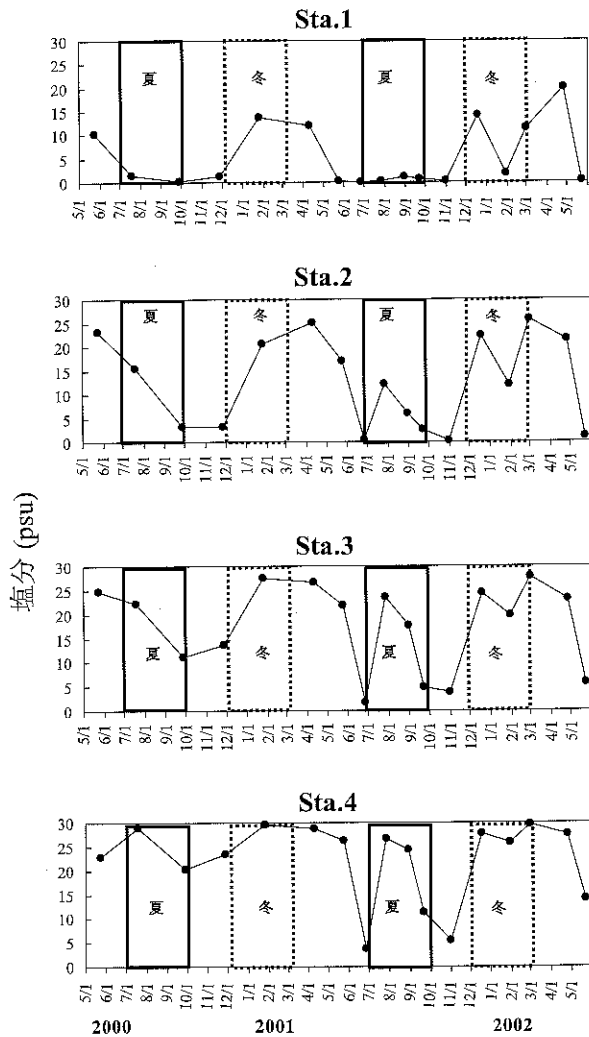


図 2-3 2000年5月から2002年5月までの吉野川の各調査地点での塩分の季節推移

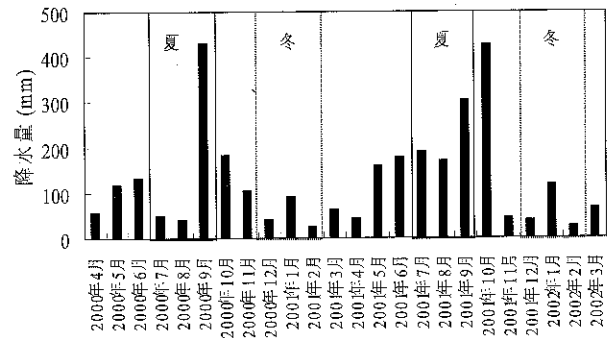


図 2-4 2000年4月から2002年5月までの徳島市(吉野川河口域)での降水量(徳島地方気象台の観測値)の季節推移

間で最低水温となり4月になると15°Cを超えて、7月に年間の最高水温となった。1月の水温は、2001年が6.6~7.6°C(気温6.9°C)、2002年が8.6~9.7°C(気温6.4°C)であり、7月の水温は2000年が26.1~29.4°C(気温28.3°C)、2001年が28.8~29.9°C(気温34.9°C)であり、水温は2000年度が2001年度にくらべ低い年であった。

図 2-3 に、各地点の表層塩分の推移を示した。また、図 2-4 に徳島市の月間降水量(徳島地方気象台)の推移を示した。塩分は、各定点とも冬期(12~2月)に高くなり夏季(7~9月)に低くなる傾向を示し、塩分の低下は降水量の増加と一致した。上流にある定点(Sta. 1, Sta. 2)で塩分低下が大きく、Sta. 1では夏季にはほとんど淡水化(0~1.5 psu)するが下流側のSta. 4では塩分の低下は少なかった(5~20 psu)。

日和佐川: 図 2-5 に気温と各調査地点の表層水温の推移を示した。水温は地点ごとの差はほとんどなく、吉野川と同様の季節変動を示し、1~2月に年間で最低水温(13~14°C)となり、8~9月に最高水温(25~29°C)となった。

図 2-6 に、各地点の表層塩分の推移を示した。また、図 2-7 に日和佐町の月間降水量(徳島地方気象台)の推移を示した。塩分は、各定点とも冬期(12~2月)に高くなったが、2000年の夏季(7~9月)は塩分0.1~18.5 psuの大きな変動を伴いながら冬期に向かい上昇した。しかし、2001年の夏季は最下流のSta. 7を除き塩分0.1~5.6 psuと低く推移した。5~10月の降水量の合計は2001年

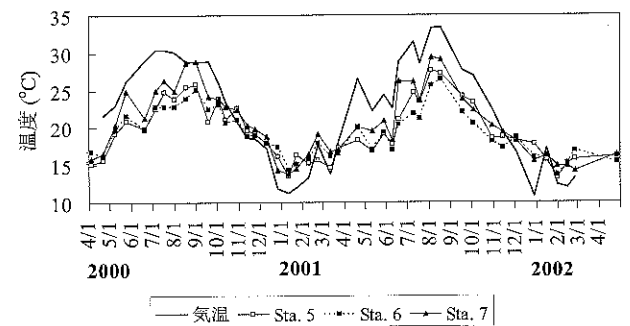


図 2-5 2000年4月から2002年4月までの日和佐川の各調査地点での水温及び気温の季節推移

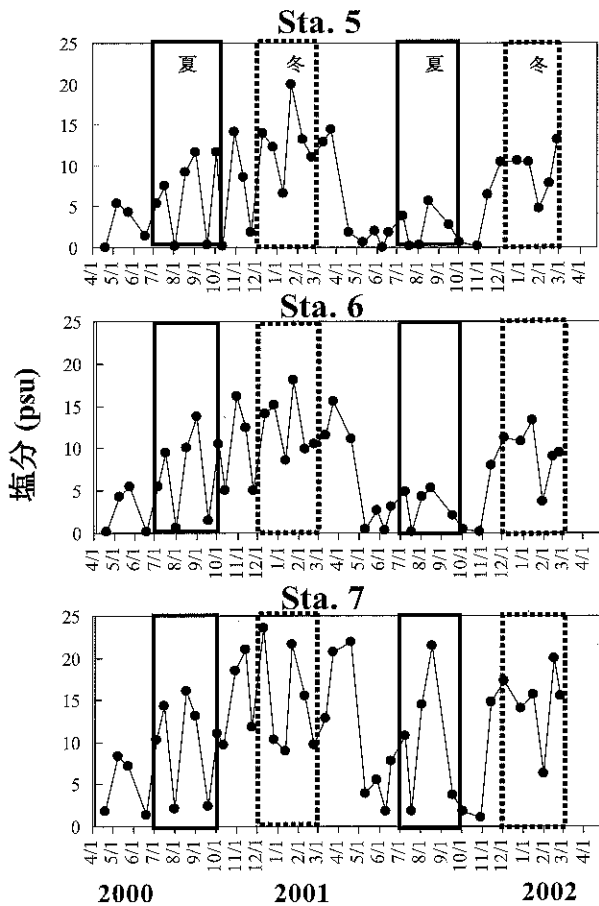


図 2-6 2000年4月から2002年4月までの日和佐川の各調査地点での塩分の季節推移

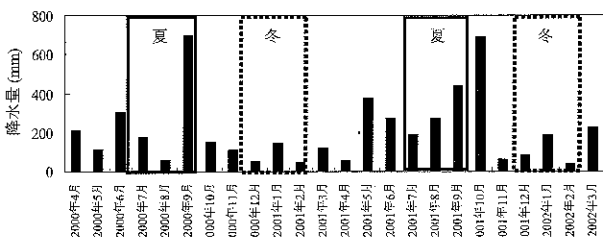


図 2-7 2000年4月から2002年3月までの日和佐町での降水量（徳島地方気象台の観測値）の季節推移

で2239 mm, 2000年で1502 mmであり, 2000年は2001年に比べ小雨であった。上流にある定点Sta. 5とSta. 6は塩分の推移は似ていたが, 下流側のSta. 7では異なる推移を示した。

季節消長

吉野川：図2-8に, 各調査地点の被度の推移を示した。どの地点でも, 冬から春(11~5月)にかけてスジアオノリが出現している。2001年の10月から2002年の4月にかけて, Sta. 3, Sta. 4では冬ノリと春ノリの2つの山がみられた。8~9月は, 2000年, 2001年ともスジアオノリはまったく出現しないか, 非常に低い被度であった。全調査期間を通じて, Sta. 1での出現期間が最も短く, Sta. 3で最も長かった。

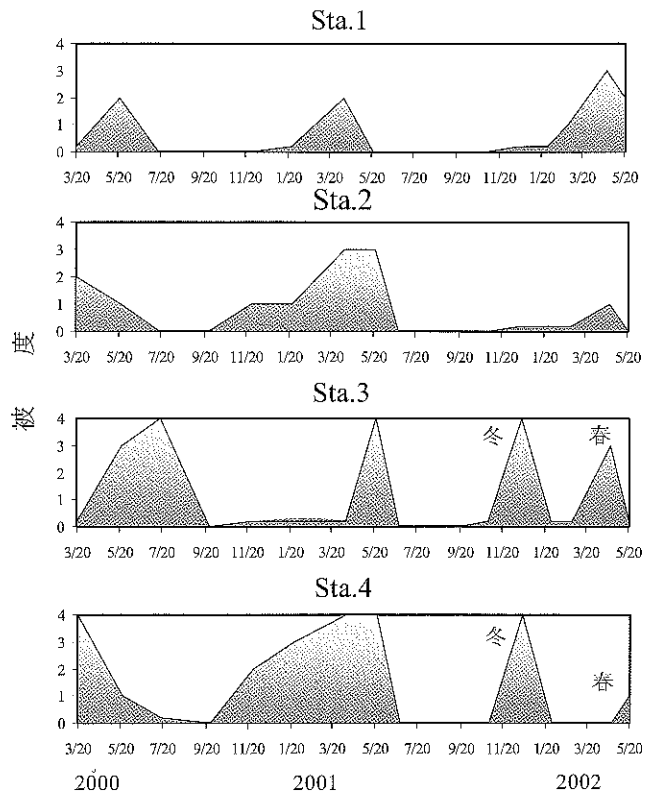


図 2-8 2000年3月から2002年5月までの吉野川の各調査地点での0.5m方形枠内のスジアオノリの被度の季節推移

図2-9に各地点の平均藻体長の推移を示した。2001年の春季は, 4月にSta. 1で平均藻体長425 mmとなり, 調査期間中の最大を示したが, 5月にはアオノリは消滅した。しかし, 他の地点では5月まで成長を続け最大となり, 6月に消滅した。そして, 12月になると再び藻体の成長がみられ, 各地点とも平均藻体長80~115 mmの冬ノリがみられた。その後, 衰退し微小な大きさの藻体となったが, 2002年3~5月にSta. 4を除き, 115~350 mmの春ノリがみられた。2001年12月から2002年4月にかけて, Sta. 1からSta. 3まで冬ノリと春ノリの2つの山がみられた。Sta. 1とSta. 2では, 被度では2つの山に分離しなかったが, 藻体長では冬ノリと春ノリの山が認められた。

日和佐川：図2-10に各調査地点の被度を示した。どの地点でも冬から春にかけて(11~5月)被度が高くなっている。2000年11月~2001年5月と2001年11月~2002年3月の2年間とも12~1月と3~4月に冬ノリと春ノリの2つの山の出現がみられた。8~9月は, スジアオノリはまったく出現しないか, 非常に低い被度であった。全調査期間を通じて, Sta. 5での出現期間が最も短く, Sta. 6が最も長かった。また, 2000年が2001年に比べ夏季(6~9月)の出現期間が長かった。

図2-11に各地点の平均藻体長の推移を示した。冬ノリと春ノリの藻体の伸長は被度の増大と一致した。最下流のSta. 7と最上流のSta. 5では, 平均藻体長が50 mm以上となる期間は短期間であった。また, 下流のSta. 7では

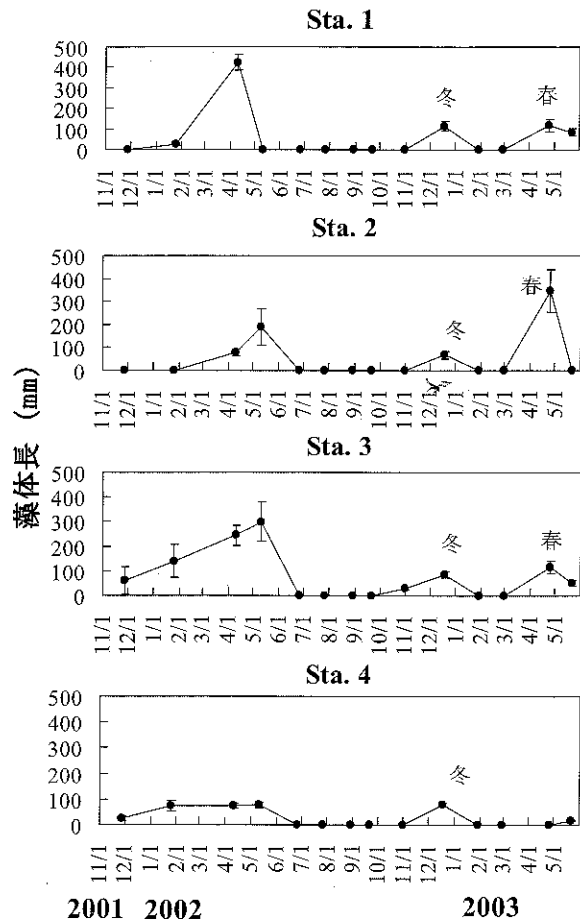


図2-9 2001年11月から2003年5月までの吉野川の各調査地点でのスジアオノリの藻体長の季節推移（垂直バーは標準偏差を示す）

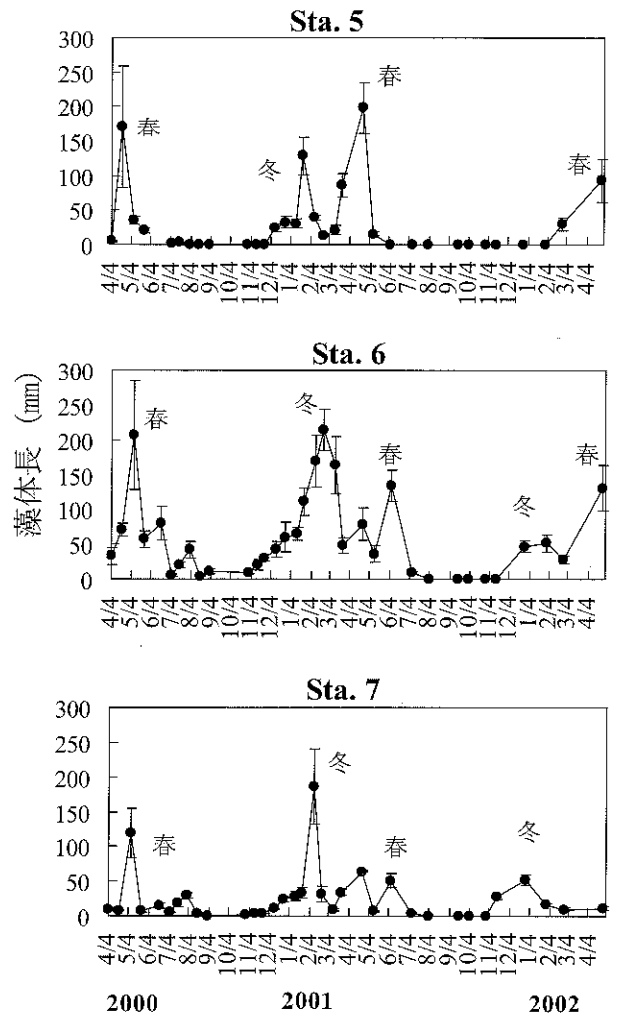


図2-11 2000年4月から2002年4月までの日和佐川の各調査地点でのスジアオノリの藻体長の季節推移（垂直バーは標準偏差を示す）

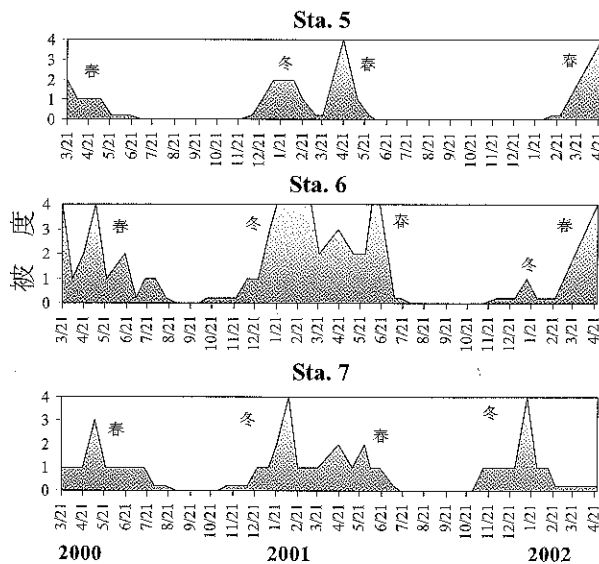


図2-10 2000年3月から2002年4月までの日和佐川の各調査地点での0.5m方形枠内のスジアオノリの被度の季節推移

冬ノリが春ノリに比べ平均藻体長が長く、逆に上流のSta. 5では春ノリが冬ノリよりも長い傾向にあった。Sta. 6では、まちまちであったが期間を通して平均藻体長が他地点のものに比べ長くなる傾向にあった。

図2-12に、日和佐川におけるSta. 5地点でスジアオノリ遊走細胞をクレモナ糸に着生させ、それを実験室内で培養した時の1 cm当たりの発芽体数の毎月の推移を示した。2000年の夏季から開始したため、発芽体は7~10月にはほとんど見られなかった(0~3個体/cm)が、11月(55個体/cm)から2001年の4月(852個体/cm)まで増加した。しかし、5月には河床からスジアオノリ藻体の消失とともに減少し(0~17個体/cm)見られなくなり、前年の夏季と同様の状態となった。

考察

河口に近い河川の下流域は、潮汐の影響により水位や流速に潮の干満に応じた周期的な変動が起こる。このような河川の下流域は河川感潮域(Tidal river)とよばれる。河川感潮域の長さは川によって異なり、一般的には勾配

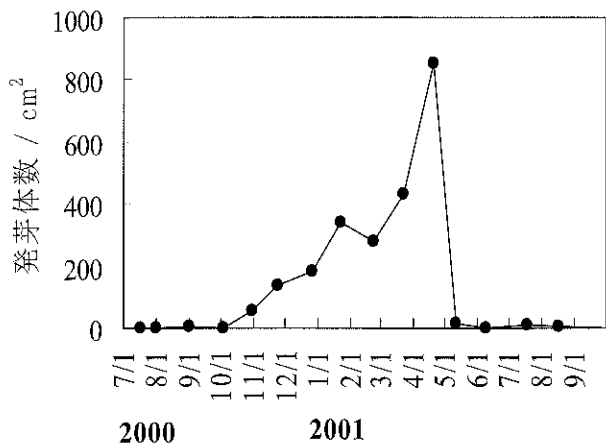


図 2-12 2000年7月から2001年9月までの日和佐川の Station 5での糸上のスジアオノリの発芽体数の季節推移。糸上の発芽体数

が小さく、断面積の大きい河川ほど感潮域は長くなる(奥田・西條1996)。今回の調査の対象となった、徳島県吉野川の流長は193 km、日和佐川は20 kmであり、四国内の河川では典型的な大河川と小河川である(河川総合ハンドブック1997)。吉野川は、河口より14 km上流にある河口堰(第十堰)までが感潮域となっており、日和佐川は季節により変動するが、現場での塩分実測から感潮域はSta. 5の少し上流(河口より1.3 km付近)までが感潮域となっている。

河川感潮域では淡水と海水が混じり合い、生物にとり重要な環境因子である水温、塩分が時間的にも空間的にも激しく変化する。感潮域での塩分分布は、弱混合型、緩混合型、強混合型の3つに大別される(奥田・西條1996)。しかし、特定の河川に常にこの分類の型が当てはまるのではなく、1つの河川で、場所により時期によりさまざまな分布型が出現する。吉野川では大潮時には強混合的な状態が、小潮時には弱混合的な状態が出現しており(湯浅1995)、日和佐川では常に強混合状態にあると考えられる。

スジアオノリの季節消長については、夏季には藻体が見られなかったスジアオノリが11月頃より出現して12~1月に成長し、その後藻体が短くなり、一端消えるように衰退するが、4~5月に再び成長がみられ、繁茂期が2つの山に分かれるという報告が高知県四万十川(大野ら1999)、高知県新莊川(Ohono and Miyanoue 1980)、愛媛県北川(愛媛県中予水試東予分場1999)である。本研究では、基本的には上記報告と同じく繁茂期が2つの山に分かれることが確認された。しかし、小河川の日和佐川ではその傾向が明瞭に現れたが(図 2-10, 11)、大河川の吉野川では冬から春まで連続した繁茂がみられ、2つの山に分かれない場合があった(図 2-8, 9)。また、日和佐川では、上流側のSta. 5では4~5月に繁茂する春ノ

リが12~2月に繁茂する冬ノリより被度、藻体長が大きく、下流側のSta. 7では逆に冬ノリが春ノリよりも伸長した。吉野川では2001年の冬から2002年の春にかけての繁茂で2つの山に分かれ、上流のSta. 1, 2では春ノリの方が伸長し下流のSta. 4では冬ノリが伸長したが、日和佐川ほど明瞭な傾向は出なかった。大野・高橋(1988)が、四万十川での春ノリと冬ノリの分布調査をおこなっているが、冬ノリは下流から中流に多く繁茂し、春ノリは上流で良く繁茂していると報告している。大野ら(1999)は、四万十川のスジアオノリは2つの品種が存在し、環境条件がそれぞれのもつ好適条件に適した時に成長が促進されると示唆している。しかし、同一種のスジアオノリであっても、水温下降期には高塩分環境が、水温上昇期には低塩分環境が成長に適しているとも考えられる。このことについては今後室内培養実験により検討する必要がある。

現場での観察では、降雨の後にアオノリの衰退がみられることが多い。塩分の低下はスジアオノリの藻体の流出を引き起こす(大野・松岡1991)といわれており、スジアオノリの消長には塩分が大きく影響しているものと思われる。吉野川、日和佐川とも塩分の低下は降水量の増加と一致し、夏季には低下し、冬季には高くなる傾向を示した。スジアオノリの被度は、冬から春にかけ増大したが、これは塩分の上昇と一致した。また、2000年は夏季にアオノリが見られる時期が2001年に比べ長かった。5~10月の降水量を比較すると、吉野川、日和佐川とも2001年は2000年の1.5倍の雨量であり(図 2-4, 7)、吉野川(図 2-3)と日和佐川(図 2-6)における夏季(7~10月)の塩分の推移においても2000年は2001年より高塩分であった。

スジアオノリの消長は河川の持つ塩分特性によって特徴づけられると考えられ、年間の塩分変動の大きな日和佐川や四万十川(図 2-9)では冬ノリと春ノリの繁茂期間が分かれやすい。年間の塩分変動の小さな吉野川では連続した繁茂となりやすいと考えることができる。繁茂期間については吉野川、日和佐川とも中間部の定点(Sta. 3, Sta. 6)が最下流部の定点(Sta. 4, 7)よりも最も長い繁茂期間を保持しており、最下流部の定点の平均藻体長は上流部の定点のものに比べ小さい。また、最上流部の定点(Sta. 1, 5)での繁茂期間は全定点で最も短い。このことから、スジアオノリの成長に好適な塩分は上流から下流までの中間部にあると考えられる。スジアオノリは、広塩性種(Bliding 1963, Koemann and Hoek 1982b)であり、塩分を離れた室内での培養実験でも0.1~56.0 psuまで成長を示すことが確認されている(Htun *et al.* 1986)。吉野川での養殖はSta. 4より下流でもおこなわれ、収穫されている。また、海面での養殖事例(豊田1997)及び海洋深層水でのタンク培養(Hiraoka *et al.* 2003)の実績がある

ことから完全な海水でも生育できることがわかっている。しかし、本研究での調査からは天然での生息環境としては海水よりも、やや塩分の低い場所を好むようである。

日和佐川におけるSta. 5定点での遊走細胞採苗後の発芽体数の推移(図 2-12)で、発芽体数は河川内に放出された遊走細胞の数を相対的に表しているものと考えることができる。これをみると、遊走細胞の増加は周辺に生育している藻体の現存量の増加に一致しており、Sta. 5では2000年11月からスジアオノリ藻体が見られ始め、2001年5月に消失している。また、2001年3月には被度及び平均藻体長の減少がみられ、冬ノリが衰退した時期にあたるが、遊走細胞数も3月で、一度減少しており藻体の消長と一致している。7~10月の夏季は藻体が見られず、遊走細胞も0~3個体とほとんど放出されていない。新崎(1957)は、アオノリ類は夏の間は干潮線近くの日陰等で微小な体で過ごし、真夏の間は死滅してしまうものが多いが生き残ったものは水温27~23℃に下降した頃に遊走細胞を出すと報告している。また、アオサ、アオノリでは一般に環境の急変、殊に高温、露出、乾燥等に対する抵抗力は、発芽した体よりは顕微鏡的な小さな体のほうが大きい傾向がある(新崎1946)。スジアオノリの藻体の

遊走細胞放出のための最適な水温は20~25℃(團ら1998)、塩分は20~30 psu (Dan *et al.* 2002)である。Sta. 5での夏季の水温は22~26℃の範囲にあり、塩分は0.1~14.1 psuの範囲にあった。アオノリ属の成長、成熟には季節性がなく、条件が整えば年中アオノリ類の藻体は生育している(大野1987)。しかし、今回の日和佐川での調査結果では夏季には肉眼で確認できる大きな藻体は見られず、また多くの河川においても夏季にみられることは希である。スジアオノリの最適な成長のための水温は15℃であり、20℃以上であると先端部から成熟して藻体が流出してしまう(平岡1999)。夏季にスジアオノリの繁茂が小さいのは、高水温による藻体の成熟流出により体を維持できないことと、降雨等により河川塩分が遊走細胞の放出を阻害する5 psu (Dan *et al.* 2002)まで低下し再生産がうまくゆかないためであると考えられる。これが、11月に入り水温が20℃以下となり、塩分も上昇することでスジアオノリの成長と遊走細胞の放出が増加することで冬から春にかけて再生産が可能となり、繁茂の拡大がみられると考えられる。

第2節 四国内の4河川でのスジアオノリ 生活史

材料と方法

スジアオノリの採取を2000年2月から2002年1月の間に四国内の吉野、日和佐、仁淀、四万十川から、それぞれ3～4回おこなった(図2-13)。それぞれの採取地点

でおよそ1 m²の範囲内にある10個体以上を採取した。採取の詳細なデータは表2-1に示した。藻体は4℃、30～50 μmol s⁻¹m⁻²12時間明期、12時間暗期条件で試験に用いるまで保存した。

藻体を成熟誘導のために、数日間上記と同じ光量下(光周期12時間明期、12時間暗期)の15℃の部屋に移した。團ら(1997)の方法に従い、5cm以上に成長した藻体を小

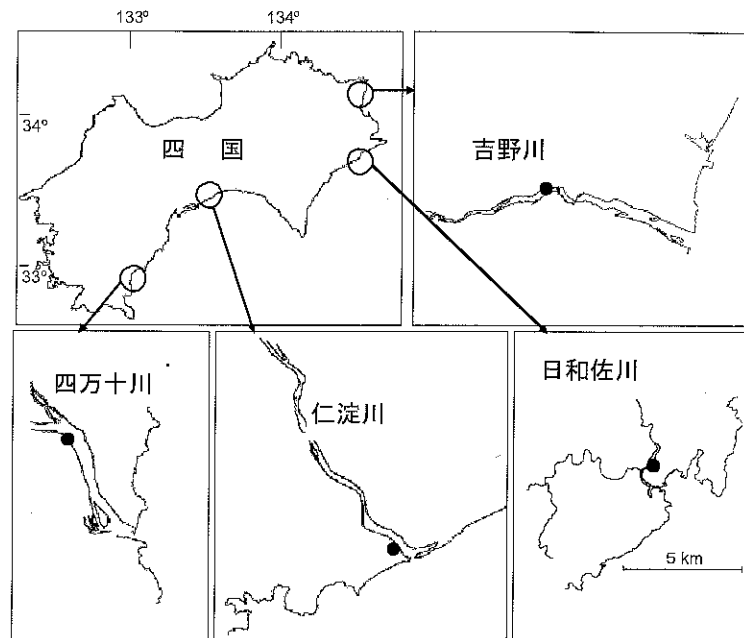


図2-13 四国内4カ所のスジアオノリ採取地点である吉野川、日和佐川、仁淀川、および四万十川を示す

表2-1 河川別のスジアオノリのタイプ

サンプル番号	河川名	採取日	葉のタイプ
E1	日和佐	2000年2月29日	有性(配偶体)
B8	日和佐	2000年4月20日	無性(2本鞭毛遊走細胞)
E21	四万十	2001年2月25日	有性(孢子体)
E11	吉野	2000年5月23日	無性(2本鞭毛遊走細胞)
E18	吉野	2001年5月23日	無性(2本鞭毛遊走細胞)
E19	吉野	2001年5月23日	無性(2本鞭毛遊走細胞)
E20	吉野	2000年3月7日	無性(4本鞭毛遊走細胞)
E2	仁淀	2000年2月7日	無性(2本鞭毛遊走細胞)
E3	仁淀	2000年2月7日	無性(4本鞭毛遊走細胞)
E6	仁淀	2000年2月7日	無性(4本鞭毛遊走細胞)

小さな葉片 (1-2mm) に細断し、滅菌海水で何度も洗浄し (團ら 1997), そして 20ml の PES 培地 (Provasoli 1968) を満たしたペトリ皿に入れ、20°C で培養し、培地は毎日換水した。細断後 2~3 日で多くの遊走細胞が放出された。放出された遊走細胞は 2 本鞭毛か 4 本鞭毛かを確認するために集め、培養、交雑試験、走光性試験に用いた。遊走細胞の大きさは顕微鏡写真測定し、平均と標準偏差で表した。遊走細胞の交雑は光学顕微鏡下で観察した。

走光性により集まった遊走細胞を 20ml の PES 培地を満たしたペトリ皿に入れ、上記と同様の条件で培養した。最初の 2 週間間に、約 5mm 以上に成長した発芽体 20 本を 300ml の PES 培地が入った容器に移し、培養した。

遊走細胞の走光性反応を調査するために、遊走細胞懸濁液数滴をガラス皿 (直径 55mm, 高さ 5mm) の中央に滴下し、白色蛍光灯の光 ($50-80 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$) をペトリ皿の側面の一方向から照射した。

顕微分光測光による試験は Motomura (1995) の方法に従った。アオサ目藻類では細胞周期の G1 期は明期の早いうちに起こる (McArthur and Moss 1978, Stratmann *et al.* 1996) ため、朝 (6:00-9:00) によく育った培養藻体の上部の縁から栄養組織を切り取った。スジアオノリの藻体と遊走細胞の固定は、エタノールと氷酢酸が 3:1 の割合の固定液を交換しながら 4°C で 1 日間行った。それぞれの固定されたサンプルを 15mM MgCl_2 を含んだ

Mcikvaine の緩衝液 (0.1M クエン酸 Na_2HPO_4 , pH7.0) で数回洗浄した (Goff and Coleman 1990)。スジアオノリの藻体組織と遊走細胞をポリ-L-リジンでコートされたカバーガラスに置き、15mM の MgCl_2 と $50 \mu\text{g/ml}$ のミスラマイシン A で、室温で 1-2 時間染色した。カバーガラスをスライドガラスの上に乗せ、濾紙にはさみ軽く押し、マニキュアでシールした。サンプルの核 DNA をオリンパス OSP-1 顕微蛍光測光計を備えたオリンパス蛍光顕微鏡 (BH2-RFK) で測定した。核のネット DNA 値は核の蛍光値から隣接した細胞質の蛍光値を減ずることにより得た。カバーガラスが異なると時折蛍光値が変動するため、同じカバーガラス上に置いた遊走細胞の核 DNA をコントロールとして栄養細胞の蛍光値を比較することで測定した。

結果

生活史

日和佐川: 日和佐川産から採取した藻体の雌雄配偶子 (図 2-14 A, B) から多くの接合子が形成された。接合子から育てた藻体は 4 本鞭毛の遊走子を放出した (図 2-14 C)。遊走子から育てた藻体は 2 本鞭毛の雄または雌の配偶子を放出した。採取したほとんどの藻体は雌または雄の配偶子、および遊走子を放出したが、96 個体のうち 12 個体では 2 本鞭毛の遊走細胞を放出し、それは負の走光性を示した。また、それは明らかに雌または雄の配偶子

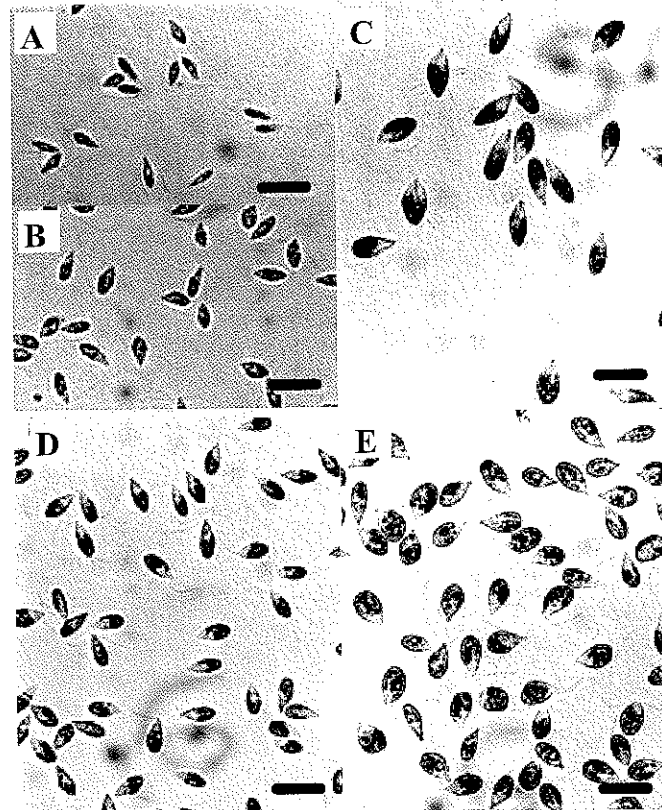


図 2-14 無性または有性生殖の生活史を持つスジアオノリの遊走細胞 A, 雄の配偶子; B, 雌の配偶子; C, 遊走子; D 2 本鞭毛を持つ無性の遊走細胞; E, 4 本鞭毛を持つ無性の遊走細胞 Scale bar=10 μm

表2-2 放出した遊走細胞の種類別の藻体数

河川名	採集地点	n (藻体数)	遊走細胞の種類				
			配偶子		遊走子	無性の遊走細胞	
			♂	♀		2本べん毛	4本べん毛
日和佐	2000年2月29日	10	3	7	0	0	0
	2000年3月21日	16	4	4	6	3	0
	2000年4月20日	25	6	8	9	2	0
	2000年5月24日	45	16	21	1	7	0
四万十	2000年3月20日	20	8	1	11	0	0
	2000年4月18日	36	5	7	24	0	0
	2001年2月25日	17	3	9	5	0	0
	2002年1月15日	30	12	11	7	0	0
吉野	2000年3月7日	15	0	0	0	13	2
	2000年5月23日	28	0	0	0	27	1
	2001年1月26日	34	0	0	0	33	1
	2001年5月23日	74	0	0	0	73	1
仁淀	2000年2月7日	10	0	0	0	2	8
	2000年5月6日	34	0	0	0	11	23
	2002年1月16日	30	0	0	0	4	26

表2-3 4河川のスジアオノリから放出された遊走細胞(n=30)の大きさと走光性

遊走細胞の種類	河川名	長さ ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$)	幅 ($\mu\text{m} \pm \text{SD}$)	走光性*
雄の配偶子	日和佐	6.4 ± 0.37	2.2 ± 0.18	+
雄の配偶子	四万十	6.0 ± 0.38	2.1 ± 0.38	+
雌の配偶子	日和佐	7.2 ± 0.47	2.8 ± 0.30	+
雌の配偶子	四万十	6.2 ± 0.54	2.8 ± 0.44	+
遊走子	日和佐	11.1 ± 0.78	4.6 ± 0.49	-
遊走子	四万十	11.5 ± 0.62	4.8 ± 0.91	-
2本鞭毛遊走細胞	日和佐	9.2 ± 0.36	3.4 ± 0.48	-
2本鞭毛遊走細胞	吉野	9.3 ± 0.35	3.4 ± 0.33	-
2本鞭毛遊走細胞	仁淀	8.7 ± 0.43	3.0 ± 0.28	-
4本鞭毛遊走細胞	吉野	9.6 ± 0.53	4.0 ± 0.39	-
4本鞭毛遊走細胞	仁淀	8.8 ± 0.59	4.5 ± 0.55	-

*+, 正; -, 負

どちらよりもサイズが大きかった(表2-2, 2-3, 図2-14D)。さらに, 2本鞭毛の遊走細胞は雌または雄の配偶子どちらとも接合しなかった(表2-4)。遊走細胞から育てた藻体は親と同じタイプの2本鞭毛の遊走細胞を放出した。3世代以上培養を繰り返したが, 各世代とも常に2本鞭毛の遊走細胞を放出した。

四万十川: 四万十川から採取した103個体の藻体は日和佐川でみられたと同様に雌雄の配偶子または遊走子を放出した(表2-2)。遊走子から育てた藻体は雌または雄の配偶子を形成した。雌または雄の配偶子は日和佐川の配偶子と接合し, 接合子を形成した(表2-4)。その雑種は3-5cmの藻体に正常に成長し遊走子を形成した。

吉野川: 吉野川から採取した151藻体のうち146個体(97%)が日和佐川でみられた無性株と同様の2本鞭毛の遊走細胞を放出した。また, それらの間での接合は観察

されなかった。2本鞭毛の遊走細胞は日和佐川のサンプルからの雌または雄の配偶子どちらとも接合しなかった(表2-4)。2本鞭毛の遊走細胞から育てた3cm以上の藻体は2本鞭毛の遊走細胞を放出した。実験室内で無性の生活史が4世代繰り返されたが, どの世代も同様の2本鞭毛の遊走細胞を形成し, 負の走光性を示した。残りの5個体は, 4本鞭毛の遊走細胞を放出したが, それは日和佐川や四万十川の有性生殖における4本鞭毛の遊走子よりも小型であった(表2-3, 図2-14D)。4本鞭毛の遊走細胞から育てられた藻体は同じタイプの遊走細胞を放出した。3世代以上繰り返されたが, それらの子は全て4本鞭毛の遊走細胞を放出した。

仁淀川: 仁淀川のサンプルからは上記で述べた2種の無性の生活史が見つかった。採取した74個体からは配偶子または遊走子を放出した株は見つからなかった(表2-

表2-4 日和佐川の配偶子と4河川の配偶子, 2本鞭毛遊走細胞との接合試験。‘+’と‘-’は, 接合の成功, 失敗をそれぞれ示している。

河川名	遊走細胞の種類	日和佐川の配偶子	
		雄	雌
日和佐	2本鞭毛遊走細胞	-	-
四万十	雄の配偶子	-	+
	雌の配偶子	+	-
吉野	2本鞭毛遊走細胞	-	-
仁淀	2本鞭毛遊走細胞	-	-

4). 2本鞭毛または4本鞭毛から育てた藻体は培養中に同じタイプの生殖細胞を放出した。放出された遊走細胞は他の2河川(日和佐川, 吉野川)の遊走細胞と大きさが似ており, 負の走光性を示した(表2-3)。

藻体の形態

4河川からの藻体は, 50-100cmまで成長し, 藻体は中空構造であり多くの分枝を持っているという形態的特徴 (Bliding 1963; Koeman and Hoek 1982b)により, スジアオノリであると同定された。培養した藻体も多くの分枝を生じた(図 2-15 A, B, C)。中央部と先端部の細胞は多少丸い角を持った不規則な多角形または長方形であり, 縦および横に並ぶことがあり, 表面をみると主に1個のピレノイドと葉緑体で満たされている(図 2-16 A, B, C)。全ての材料は, 形態的特徴からスジアオノリとして同定された。

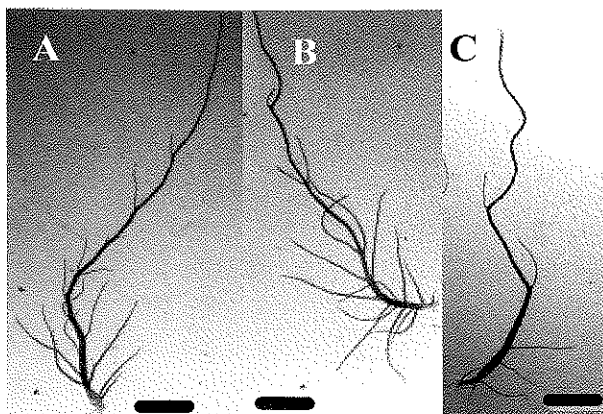


図 2-15 異なる生活史を持つスジアオノリの培養2週間後の発芽体 A, 日和佐川の藻体からの接合子を培養した藻体(孢子体); B, 日和佐川の藻体からの2本鞭毛遊走細胞を培養した藻体(無性); C, 仁淀川の藻体からの4本鞭毛遊走細胞を培養した藻体(無性) Scale bar=1 mm

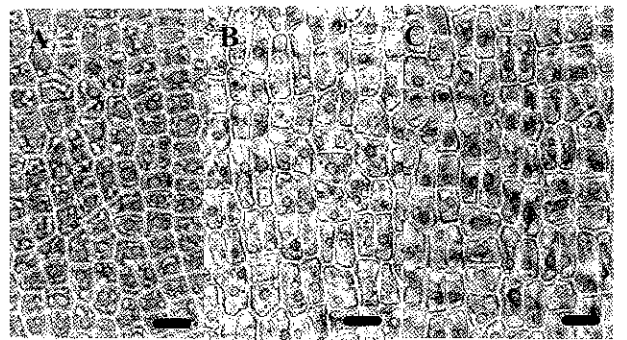


図 2-16 5-10 cmの長さの培養されたスジアオノリ藻体の中央部から先端部にかけての栄養細胞の表面 A, 日和佐川の孢子体; B, 吉野川の2本鞭毛遊走細胞を再生産する無性の藻体; C, 仁淀川の4本鞭毛遊走細胞を再生産する無性の藻体 Scale bar=10 μm

顕微分光測光

図 2-17 に配偶子と有性および無性の生活史での栄養藻体の核の顕微分光測光データを示した。これらのデータから, それぞれの藻体の相対DNA値を同じカバーグラス上に置いた配偶子の平均相対蛍光値(1unit)と比較して表した(表2-5)。孢子体及び配偶体, 配偶子の相対核DNA値をそれぞれ2Cおよび1Cと見積った。2本鞭毛または4本鞭毛から無性的に再生産された藻体の核は配偶子(1C)と比較して2CのDNA値を持っていると見積もられた。無性の遊走細胞とその母藻の相対的核DNA値はおおよそ1対1であった(図 2-17, 表2-6)。表2-5, 表2-5の結果は, 2本鞭毛または4本鞭毛の遊走細胞は配偶子の核DNA値の倍を示した。

考 察

有性生殖, 2本鞭毛の遊走細胞を持つ無性生殖, 4本鞭毛の遊走細胞を持つ無性生殖という3つの異なる生活史を持つスジアオノリが四国内の4河川で観察された。

これら3種類の生活史を図 2-18に要約して示した。日和佐川と四万十川のスジアオノリは4本鞭毛の遊走子と2本鞭毛の配偶子をもつ同型の単複相植物である典型的な有性生殖の生活史を持つことが分かった(図 2-18 A)。スジアオノリの生活史と同様の報告が韓国(Kim *et al.*1991)とヨーロッパ(Bliding1963; Koeman and Hoek1982b; Burrows1991)である。一方、吉野川、日和佐川、仁淀川のスジアオノリサンプルでは主に2本鞭毛遊走細胞を持つ無性の生活史を持っていた(図 2-18 B)。Bliding(1963)はスウェーデン西海岸でのスジアオノリ *E. prolifera* (subsp. *gullmariensis*)で同様の無性の生活史を報告している。4本鞭毛の遊走細胞だけで再生産する無性の生活史を持つ第3のタイプが吉野川と仁淀川で見ついている(図 2-18 C)。このタイプの生活史はスジアオノリでは報告されていないが、他のアオノリ種であるウスバアオノリ *E. linzia* や *E. procera* では見ついている(Bliding1963; Koeman and Hoek1982a, b, Blomster2000)。Kapuraun(1970)は培養において2本鞭毛の遊走細胞を作る藻体と4本鞭毛を作る藻体が交替する無性のスジアオノリ株を見つけているが、そのような無性での交替はこの材料では観察されることはなかった。

多くのアオノリ種で雌雄の配偶子は単為発生し新しい藻体へと成長する(Bliding1963; Koeman and Hoek1982a)。この研究での無性の2本鞭毛の遊走細胞は同数の鞭毛を持つ配偶子と形態的には似ていた。最初に2本鞭毛の遊走細胞を持つ無性生殖株は有性生殖の生活史のなかで単為発生的に派生したものであるという仮説を立てた。しかしながら、交雑試験では有性、無性株は交雑しなかった(表2-4)。Koeman and Hoek(1982a)はアオノリ種のサンプルのなかで2本鞭毛の遊走細胞と述べているだけで、それが配偶子なのか無性の遊走細胞なのか特定していなかった。しかしながら本研究では、無性生殖の2本鞭毛の遊走細胞は配偶子と比べて3つの異なる固有の性質を持っていることが分かった。即ち、1) 配偶子は一般に単相体であるのに対し、それらは複相体である。2) それらは我々の有性生殖の株の配偶子と遊走子と比べて中間の大きさである(表2-3)。3) 配偶子は一般に正の走行性であるのに対し、それらは負の走光性である。

Bliding(1963)は無性の遊走細胞を有性生活史における配偶子と遊走子から区別するために「zoosporoids」と呼んだ。彼は、スウェーデンの西海岸のスジアオノリの2本鞭毛の zoosporoids が最初は正の走行性であったが、後に負となったと述べている。本研究での2本鞭毛の遊走細胞は1つの眼点を持ち負の走光性を示す。負の走光性はおそらく水中での着底の機会を増大させるので(Fletcher and Callow1992; Togashi *et al.*1999)、これらの無性の遊走細胞は着底に特化したものであると考えられた。この研究での無性の4本鞭毛を持つ遊走細胞も4本の鞭毛を持ち負

の走光性を示す遊走子に形態的に似ており負の走光性を示した。しかしながら、4本鞭毛の無性の遊走細胞は遊走子よりも大きさが小さく、複相体である。それは、減数分裂をしないで複相体の母藻で形成されるが、単相体の遊走子は減数分裂により作られる。もしこれらの4本鞭毛の遊走細胞が減数分裂の能力を失った胞子体から派

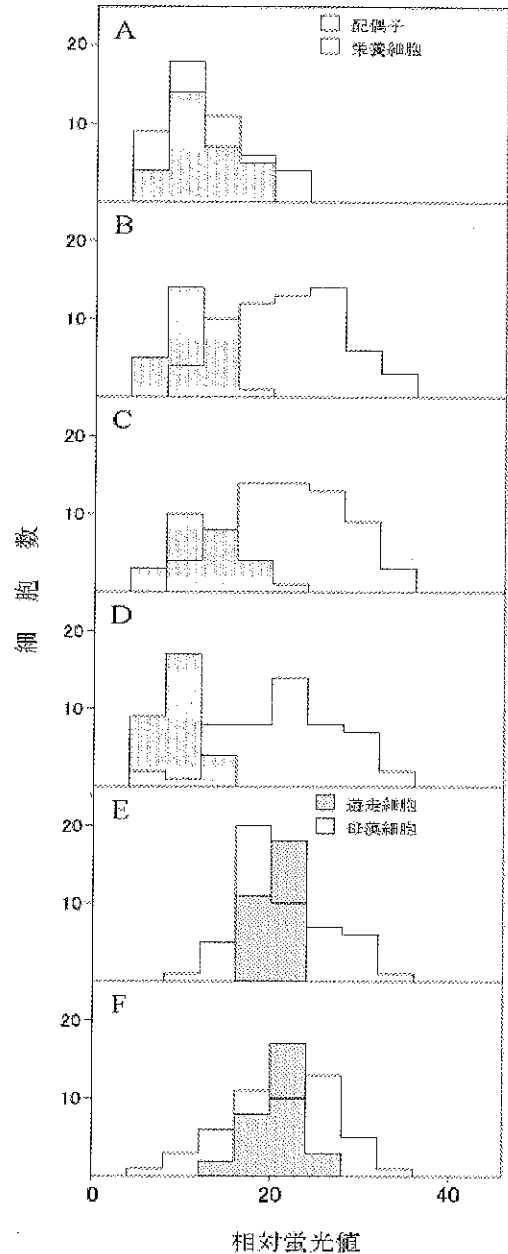


図 2-17 顕微測光により、対象サンプルとして四万十川の配偶子の核の相対蛍光値とAからDのそれぞれの種類の葉の栄養細胞の核の相対蛍光値、また、E、Fの無性の遊走細胞とその母藻の核の相対蛍光値のヒストグラムを示した。A、配偶子/ 四万十川の配偶体; B、配偶子/ 四万十川の胞子体; C、配偶子/ 吉野川の2本鞭毛遊走細胞を作る無性の藻体; D、配偶子/ 仁淀川の4本鞭毛遊走細胞を作る無性の藻体; E、2本鞭毛の無性の遊走細胞/ 日和佐川のその母藻; F、4本鞭毛の無性の遊走細胞/ 吉野川のその母藻

表2-5 顕微測光による配偶子(対象)とそれぞれの藻体の種類における栄養細胞の相対核蛍光値。比は配偶子の相対蛍光値に対する栄養細胞の相対蛍光値である。

藻体の種類	河川名	相対蛍光値 (平均±S.D.)		比
		栄養細胞	配偶子 (対象)	
孢子体	日和佐	19.0±6.5 (n=50)	8.6±1.9 (n=29)	2.2
	四万十	21.5±6.0 (n=62)	10.7±2.4 (n=30)	2.0
配偶体(♀)	四万十	12.0±4.6 (n=50)	11.6±3.4 (n=30)	1.0
配偶体(♂)	四万十	14.6±4.2 (n=50)	10.6±2.1 (n=30)	1.4
2本鞭毛遊走細胞の	日和佐	21.3±7.7 (n=50)	9.4±1.7 (n=30)	2.3
無性の藻体	吉野	21.9±6.2 (n=65)	12.2±3.8 (n=26)	1.8
	仁淀	25.5±8.2 (n=50)	10.6±2.3 (n=27)	2.4
4本鞭毛遊走細胞の	吉野	21.2±6.7 (n=50)	10.9±2.9 (n=30)	1.9
無性の藻体	仁淀	21.3±6.6 (n=50)	9.0±2.3 (n=30)	2.4

生したものとするならば、その転換は永久的であったと考えられた。本研究で交雑試験および顕微分光測光法をおこなうことにより、2本鞭毛または4本鞭毛の遊走細胞

胞を持った2種の無性の生活史がまったく独立したものであり、有性生殖における生活史の中での異常な相ではないと結論した。