

第5章 藻体抽出液が初期形態形成に及ぼす影響

スジアオノリ *Enteromorpha prolifera* の遊走細胞を容器内に高密度で播種すると発芽体の成長が抑制され容器底面で微小な藻体が密生した“Bottle-brush form”となることが観察されている (Moss and Marsland 1976)。Reddy and Fujita (1991) は、アオノリ属3種ウスバアオノリ *E. linza*, ヒラアオノリ *E. compressa*, スジアオノリの無菌培養下でプロトプラストを再生させたところ、発芽体の密度が高すぎると細胞分裂が阻害されることを報告している。また、Eaton (1966) は、藻体自身が生産、分泌する物質が細断された藻体片の仮根形成を促進することを報告している。したがって、スジアオノリ藻体の成長や形態形成には藻体から分泌される物質が関与している可能性が考えられる。そこで本章では、スジアオノリ藻体を摩砕し、水抽出した濾液を生育段階別のスジアオノリに添加して培養することにより、藻体抽出液が発芽および形態形成にどのような影響を及ぼすのかを調べた。

材料と方法

藻体抽出濾過液の作成

徳島県吉野川汽水域で採取し、継代培養されていた2本鞭毛の生殖細胞を作る無性生殖の生活史を持つ系統株藻体 (Hiraoka *et al.* 2003) を用いて、湿重量40 g (平均藻体長120 cm) を20 psuの滅菌海水200 mlと共にブレンダーで粉碎した後、孔径20 μm のフィルターで細断片と濾液に分離した。細断片は、外径9 cmのガラス乳鉢に入れ、海砂 (425~850 μm , 20~35 mesh, 和光純薬工業株式会社) を加え摩砕し、20 psuの滅菌海水1800 mlに懸濁して3l三角フラスコに入れ、往復振とう機 (MULTI SHAKER MMS, 東京理化学器械株式会社) で1時間攪拌した。この溶液に孔径20 μm のフィルターで分離しておいた濾液を加えて十分に混合した後、メンブレンフィルター (Cellulose Acetate Filter, アドバンテック株式会社) 孔径3, 0.45, 0.2 μm の順に吸引濾過した濾液を50 mlずつプラスチックボトルに入れ密封し、生物検定を開始するまで-20 $^{\circ}\text{C}$ で凍結保存した。

実験1. 藻体抽出濾液が発芽に及ぼす影響

直径9 cm, 深さ2 cmの滅菌プラスチックペトリ皿に20 psu海水を50 mlずつ満たし、高密度による成長抑制作用が働かない濃度 (園, 未発表) として遊走細胞を約10,000個の割合で播種した。ペトリ皿に18 \times 18 mmのカバーガラスをそれぞれ8枚ずつ入れ遊走細胞を付着させた。播種後のペトリ皿は20 $^{\circ}\text{C}$ の恒温室に入れ、遊走細胞を均一に着生させるため外側をアルミ箔で遮光して24時間静置した。

上述の藻体抽出濾液を室温 (20 $^{\circ}\text{C}$) で解凍し、20 psuの海水で希釈し6段階の濃度勾配液を作成した。すなわち、抽出濾過液の3.1, 6.3, 12.5, 25, 50, 100%の濃度になるように希釈した溶液をそれぞれ30 mlずつ作成し、直径9 cm, 深さ1.5 cmの滅菌プラスチックペトリ皿に満たした。また、対照区として20 psu海水を30 ml満たしたペトリ皿も用意した。藻体抽出濾液中に含まれる物質のバクテリアによる消費を防ぐため、各希釈濾過液と対照区に、抗生物質混液 (Penicillin 5000 Units/ml \cdot Streptomycin 5mg/ml, 和光純薬工業株式会社) 0.2 mlずつを添加した (Stratmann *et al.* 1996)。これら合計7枚のペトリ皿に、前日に採苗したカバーガラスを3枚ずつ入れ、20 $^{\circ}\text{C}$, 光量40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期) で7日間培養した。培養3日目に、各濃度区及び対照区の培地を新しい培地に更新した。

培養終了後に、発芽体数、仮根部以外の藻体長、仮根長を測定した。発芽体数の計測は万能投影機 (PROFILE PROJECTOR V12, ニコン株式会社) を用い、スライドガラス上に藻体の生育している面を下にしてのせ、1視野 (7.1 mm^2) 当たりの発芽体数を30視野分計数し、1 mm^2 当たりの発芽体数を求めた。仮根部以外の藻体の長さとは仮根部の長さは、万能投影機を用い、30個体をトレーシングペーパーに写し取り、長さを求めた。

実験2. 藻体抽出濾液が発芽体の形態に及ぼす影響

実験1と同様の手法でスライドガラスに遊走細胞を着生させたものを、栄養塩を添加したPES培地中で10日間培養し、カバーガラスに着生した平均藻体長と標準偏差が4.1 \pm 0.4 mmのスジアオノリを準備した。なお、培養条件は20 $^{\circ}\text{C}$, 光量40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期) とした。

保存してある抽出濾過液を室温 (20 $^{\circ}\text{C}$) で解凍し、20 psuの滅菌海水で希釈し、実験1と同じ6段階の濃度勾配液を50 mlずつ作成した。各濃度液に、栄養塩を添加したPES培地に実験1と同じ抗生物質を同じ割合で添加し、直径9 cm, 深さ2 cmの滅菌プラスチックペトリ皿に満たした。また、対照区として20 psu海水に栄養塩を添加したPES培地に抗生物質を加えたものを50 ml満たしたのもも用意した。合計7枚のペトリ皿に、準備した発芽体の着生したカバーガラスを3枚ずつ入れ、20 $^{\circ}\text{C}$, 光量40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期) で7日間培養した。培養3日目に、各濃度区及び対照区の培地を新しい培地に更新した。

培養終了後に、藻体長、細胞の形態と配列が通常細胞と異なる部分の測定及び仮根部の観察を次のようにおこなった。各試験区のカバーガラス1枚当たり10個体ずつ藻体を眼科用ピンセットで抜き取り、合計30個体分の藻体長 (仮根部を除く) を万能投影機を用いてトレーシング

グーパーに写し取った。また、細胞の形態と配列が通常細胞と異なる部分（以下「異常細胞部分」と呼ぶ）については10個体分を正常な細胞部分と異常細胞部分に分けて藻体軸方向の長さをトレースした。仮根部は、スライドガラス上に藻体の生育しているカバーガラスの面を下にしてのせ生物顕微鏡で観察し、写真撮影をおこなった。

実験3. 藻体抽出濾液が幼葉に及ぼす影響

実験1と同様の手法でカバーガラスに遊走細胞を着生させたものを、栄養塩を添加したPES培地中で25日間培養し、カバーガラスに着生した平均藻体長と標準偏差が 41.0 ± 7.5 mmのスジアオノリ幼葉を準備した。なお、培養条件は20℃、光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ （12時間明期、12時間暗期）とした。

保存してある藻体抽出濾過液を室温（20℃）で解凍し、20 psuの海水で抽出濾過液の50%に希釈した溶液を50 ml作成した。その希釈液に栄養塩を添加したPES培地に実験1と同じ抗生物質を同じ割合で加え、直径9 cm、深さ2 cmの滅菌プラスチックペトリ皿に満たした。また、対照区として20 psu海水に栄養塩を添加したPES培地に抗生物質を加えたものも50 ml満たした。これらペトリ皿に、準備した藻体の生育しているスライドガラスを3枚ずつ入れ、15℃、光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ （12時間明期、12時間暗期）で25日間培養した。培地交換は、3～4日ごとにおこなった。培養終了後に仮根部以外の藻体長の測定及び形態を観察し、写真撮影した。

結果

実験1. 藻体抽出濾液が発芽に及ぼす影響

表5-1に、スジアオノリ藻体からの抽出濾過液が遊走細胞の発芽及び成長に及ぼす影響を示した。抽出濾液を添加した場合、スライドガラス上の 1mm^2 当たりの平均発芽体数は0.7～1.1本の範囲であり、また抽出濾液を添加していない対照区では0.8本となり、抽出濾液の添加濃度による差はみられず、発芽に関しては抽出濾液の影響はみられなかった。発芽後、平均藻体長は抽出濾液の濃度が高くなるにつれ短くなる傾向があり成長抑制効果が認められた。また、仮根については、抽出濾液の原液(100%)

及び50%希釈液では仮根細胞と通常の細胞との判別ができなかった。仮根部も含めた藻体全体の長さに対する仮根部の長さの割合では、抽出濾液の添加区(32.3～42.8%)は、対照区(12.6%)より高かった。

実験2. 藻体抽出濾液が発芽体に及ぼす影響

平均藻体長4.1 mmの発芽体に対する抽出濾液の影響については、図5-1に示すように、抽出濾液を50%に希釈して培養した場合を図5-1-A, B, C, D、無添加の対照区を図5-1-E, F, Gに示した。抽出濾液中での培養では、仮根部より上の藻体基部付近の細胞が仮根を持った細胞に分化している様子が観察された(図5-1-A)。対照区では、藻体

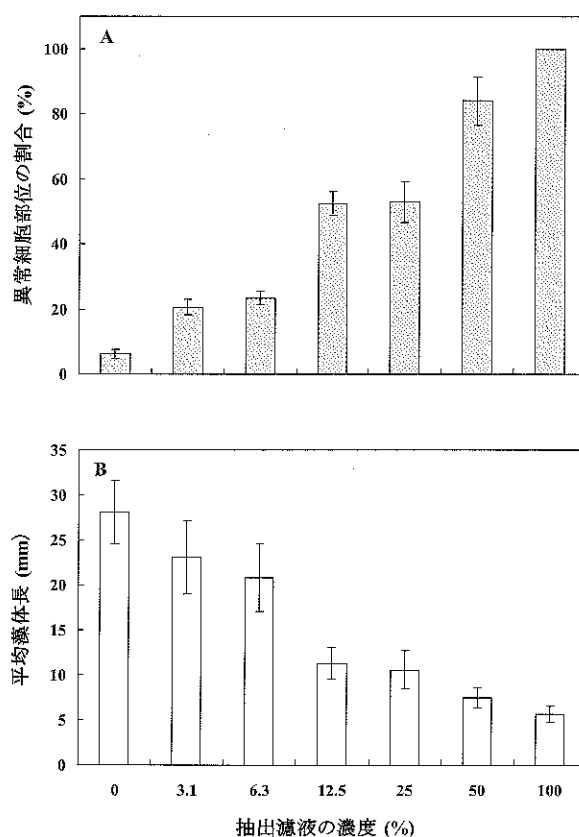


図5-2 抽出濾液中での培養後の異常部位の割合(A)と藻体の成長(B)。垂直の棒は標準偏差を示している(Aではn=10、Bではn=30)。

表5-1 スジアオノリの抽出濾液が遊走細胞の発芽及び成長に及ぼす影響

濾液濃度 (%)	対象	3.1	6.3	12.5	25	50	100
発芽体の数 / mm^2 (n)	0.8 ± 0.2	1.0 ± 0.3	1.1 ± 0.5	0.8 ± 0.2	0.7 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2
発芽体の平均藻体長 (μm)	436 ± 80	259 ± 43	209 ± 37	233 ± 33	152 ± 25	121 ± 18	60 ± 13
発芽体の平均仮根長 (μm)	55 ± 16	91 ± 13	69 ± 13	75 ± 17	65 ± 26	—	—
仮根の割合 (%)	12.6	35.1	33.1	32.3	42.8	—	—

値は平均値±SD(標準偏差)として示す。

仮根長の割合 (%) = $\frac{\text{仮根長} \times 100}{\text{藻体長} + \text{仮根長}}$

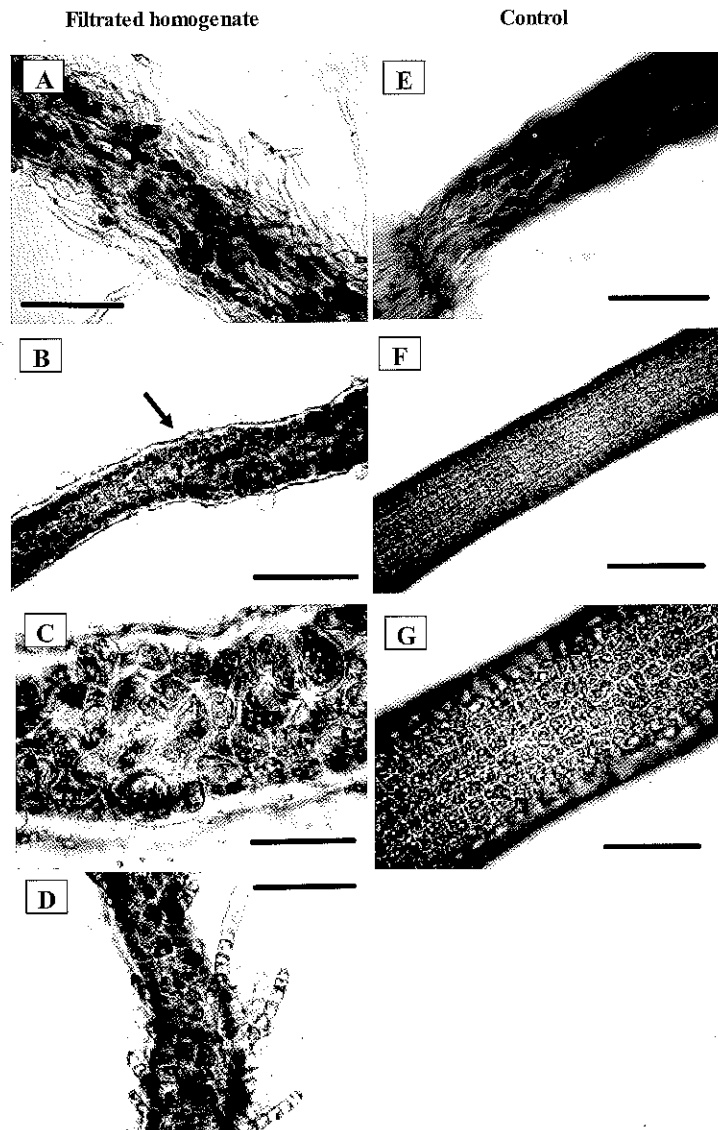


図5-1 スジアオノリ藻体の抽出濾液が発芽体(4.1 mm)の基部(A), 中央部(B,C,D)における形態に与える影響。E(基部), FとG(中央部)は対象。A, B, D, E, Fの横棒は100 μm , C, Gは50 μm 。Bにおける矢は、正常な細胞部位(左側)と異常細胞部位(右側)の境界を示している。

基部はアマノリ類でみられる根様糸細胞に似た細胞は観察されるが、仮根を持つことはなかった(図5-1-E)。しかし、抽出濾液中で培養された場合には本来仮根を持つことのない細胞まで仮根を持った。また、この仮根を持った細胞より上部の細胞(図5-1-C)を観察すると対照区(図5-1-G)に比べ、細胞配列が乱れ、細胞膜が肥厚している。本研究では本来の仮根部より上部にあって仮根を持った細胞部分と細胞配列の乱れた部分を合わせた部位を異常細胞部分と呼ぶ。この異常細胞と正常な配列を持った細胞とは境界が明瞭であり(図5-1-B)、基部から先端部方向にかけ異常細胞部分は藻体軸に沿って連続して現れ、正常な細胞と入り混じることにはなかった。図5-1-Dでは、正常細胞との境界付近にある異常細胞部分から多数の小さな分枝が上方に向かって伸びている。この現象はしばしばみられ、小さな分枝は決して基部付近にはなく、常

に正常細胞との境界付近にのみみられた。

図5-2は、実験2の培養7日後の藻体長に占める異常細胞部分の割合と平均藻体長を抽出濾液の濃度別に示した。異常細胞部分の占める割合は抽出濾液の濃度が上昇するにつれ増大している。また、抽出濾液の濃度が上昇するにつれ平均藻体長は短くなり成長抑制効果がみられた。

図5-3は、カバーガラス上に成長した藻体の仮根部を裏側から見たものである。抽出濾過液の高い濃度(50, 100%)の場合(図5-3-A,B)、仮根は本来の形状を示すと考えられる細い透明な枝分かれの多いものにならず、枝分かれが少ない丸みを帯びた形状になる。25%希釈液より低濃度(図5-3-C)となると対照区(図5-3-D)の形状に近いものになった。

考察

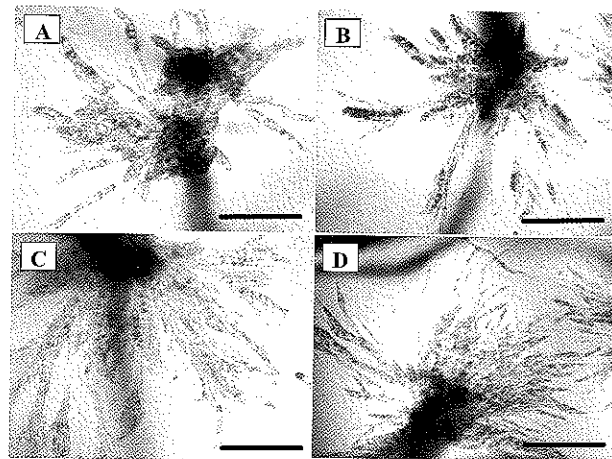


図5-3 スジアオノリ藻体の抽出濾液が発芽体(4.1 mm)の仮根部における形態に与える影響。A は高濃度の抽出濾液(100%), B, C, D は、それぞれ抽出濾液の濃度 50, 25, 0%を示している。横棒は 200 μ mを示している。

実験 3. 藻体抽出濾液が幼葉に及ぼす影響

図5-4に平均藻体長が41.0 mmの幼葉に対する抽出濾過液の影響について濾液添加区と対照区を、それぞれの部位ごとに対比させて示した。この結果、仮根を持つ細胞が藻体基部から先端部まで観察され、藻体全体の細胞が仮根を持つ細胞に分化したことが分かった。実験終了時の平均藻体長と標準偏差は、濾過抽出液添加区が 36.0 ± 10.2 mm, 対照区が 122.0 ± 43.5 mmであり成長抑制効果がみられた。

スジアオノリ遊走細胞の発生におよぼす抽出濾液の影響は顕著ではなかった。しかし、発芽後は濃度の上昇に伴い藻体の成長が抑制された。このことは Moss and Marsland (1976) が観察した "Bottle-brush form" の現象は、藻体自らが分泌した成長抑制物質により説明できると考えられる。すなわち、容器内に高密度に播種されたスジアオノリの生殖細胞の発芽は正常におこなわれるが、その後自らの分泌する物質により成長が抑制され、小さな藻体のままで止まる。この成長の抑制は、藻体相互間による光や空間または栄養の競合による相互作用とともに藻体自身が分泌する物質により影響があると考えられる。また、抽出濾過液が発芽後の藻体へ及ぼす影響は、濃度が高くなるにつれ仮根形成部の割合が大きくなった。Eaton(1966)は、スジアオノリとボウアオノリ *E. intestinalis* について葉状体抽出液を添加した培地で藻体片を培養した場合、無添加の対照区に比べ仮根数及び仮根長が増大したことを報告しており、本研究の抽出濾過液中では仮根の成長が促進された結果と一致している。

平均藻体長4.1 mmの発芽体に対する抽出濾液の影響については、濾液濃度が上昇するにつれ伸長が遅く、平均藻体長は短くなり、成長抑制効果がみられた。図5-5に、藻体長約4 mmの発芽体に対する抽出濾液添加の影響について模式化して示した。まず、仮根部以外の藻体に対しては成長を抑制する働きがある。また、抽出濾液は濃度依存的に基部側から異常細胞の部分を増加させ、高濃度

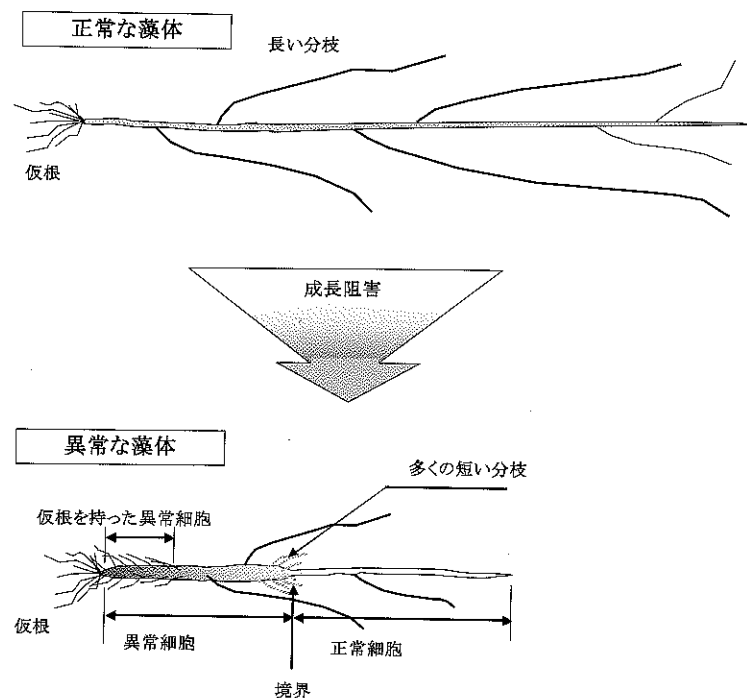


図5-5 スジアオノリ藻体の抽出濾液が初期の平均藻体長が4.1mmの発芽体の形態形成に与える影響についての模式図

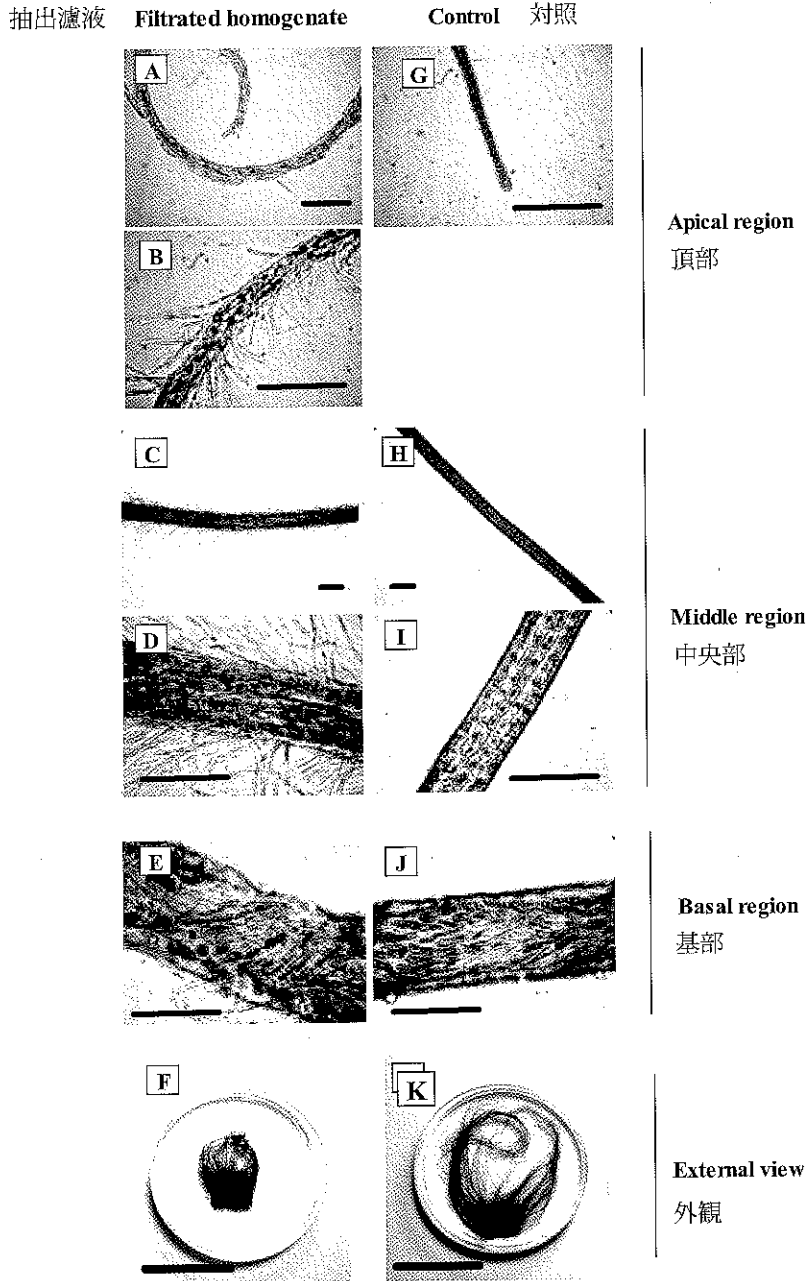


図5-4 スジアオノリ藻体の抽出濾液が幼葉(41 mm)の頂部(A, B), 中央部(C, D), 基部(E)における形態に与える影響。FとKは外観を示している。G-Kは対照。横棒は、A-E, G-Jが100 μmを、FとKが36 mmを示している。

では藻体全体を異常細胞化させる。また、異常細胞部分の基部付近では仮根を持つ細胞が見られるようになる。このことから、抽出濾液中にある物質はまず基部位から影響し、細胞を仮根様細胞へと分化させる働きがあると考えられる。異常細胞部分の先端部では、多くの小さな分枝が上に向かって伸びることが観察されるが、分枝は決して基部付近で発生することはなく、常に異常細胞部位の先端部で見られる。このことは、異常細胞部分であっても極性は失われてはいないことを示していると考えられる。また、無添加の対照区でも異常細胞の割合がわずかながらみられたが(図5-2-A)、これは培養藻体自身が分泌した物質による影響と考えられた。

平均藻体長が41.0 mmに成長した幼葉に対する抽出濾液添加の影響について、本実験は25日間と長期間培養したため、抽出濾液の影響は大きく現れたものと考えられた。仮根を持つ細胞は、藻体基部から先端部までに見られ、長期間の抽出濾液に浸漬した場合は、藻体の全細胞が仮根様細胞に分化することがわかった。4.1 mmの発芽体と41 mmの幼葉とでは藻体抽出濾液添加の影響に大きな差異は認められなかった。

アレロパシーの定義は、植物、微生物、動物などの生物が同一個体外に放出する化学物質が、同種の生物を含む他の生物個体の発生、生育、行動、栄養状態、健康状態、繁殖力、個体数、あるいはこれらの要因となる生理・

生化学的機構に対して、何らかの作用や変化を引き起こす現象とされている(藤井2000)。今回の実験ではスジアオノリ藻体抽出濾液が同種のスジアオノリ藻体に及ぼす作用について調べたが、他種の植物に対する作用も調べる必要がある。たとえば、天然ではアオノリ群落には概ね単一種のアオノリのみが生育し、他の海藻の混生は少ない。これはアオノリの藻体が常にアレロパシー物質を分泌する結果、他の海藻の生育がさまたげられていると考えられ、今後の研究課題である。

アオサ属の *Ulva mutabilis* とアナアオサ *U. pertusa* では、栄養藻体に成熟を阻害する物質を含んでおり、これが一定の濃度を保っている時には栄養成長をするが、何らかの原因により減少すると、成熟が引き起こされるといわれている(Nilsen and Nordby 1975, Nordby 1977, Hiraoka and Enomoto 1998)。また、スジアオノリ藻体にも、同様の成熟を阻害する物質を含むことが報告されている(Dan *et al.* 2002)。さらに今回の結果から、スジアオ

ノリ藻体からの抽出濾液は成熟阻害だけでなく成長抑制、通常細胞の仮根細胞への分化を誘導する働きも持つことが分かった。これらの結果は、スジアオノリ藻体を細断した組織培養片を直接養殖網に付けることにより種苗を作る場合、組織片をあらかじめ藻体抽出液で培養することで仮根を効果的に誘導し、網に付着させることに応用でき、また、大きな細断片を用いて仮根を誘導し養殖網に付けることができれば、通常の養殖種苗より早く収穫できる可能性も考えられる。さらに、近年タンク培養によるスジアオノリ養殖がおこなわれるようになった(Hiraoka *et al.* 2003)が、タンク内で培養する際、高密度で培養すると藻体から分泌される成長抑制物質の影響を受け、成長を抑制しない適正な藻体密度で養殖する必要がある。このほか、養殖漁場で一度刈り取った後に短くなった藻体の付着した養殖網を抽出濾液入りのタンクで培養し、分枝を誘導することで、再度種網として用いることも可能であると考えられる。

第6章 生産安定化技術

緒論で述べたように、アオノリ養殖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こともなく、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(八柄ら1955, 新崎1957, 大津ら1959, 高山ら1983)やアマノリ類におけるノリ網の冷蔵保存の研究(富山1967)に付帯してアオノリ研究がおこなわれていた程度である。これら研究の中では、アオノリの耐乾燥性(八柄ら1955)とか各種化学物質に対する耐性(高山ら1983), 低温に対する耐性(富山1967)などの研究が行われた。近年になり、アオノリ類の需要の高まりがあり天然採苗における養殖技術の研究(河本・門永1988, 河本・門永1990a, 河本・門永1990b)や人工採苗の研究(Pandy and Ohno 1985)が行われている。しかしながら、各地で行われているアオノリの養殖は漁業者の試行錯誤による経験に基づいて発展してきた技術であったため、生産は自然条件に大きく左右されていた。このため、本研究では生産の安定を図るために、前章までの基礎的研究を受けて、人工採苗技術、種網の保存技術、養殖管理技術についての応用研究を行った。

第1節 人工採苗技術

天然採苗の問題点として次の事項があげられる。

- 1) 採苗の確実性が低い。
天然採苗は場所及び時期によっては良好な採苗ができないことがある。このため、種場に必要以上の枚数の網を常に設置しておかなければならず、場所的にも労力的にも無駄な面が多く、計画的な生産が行えていない。
- 2) 漁場の水温低下により河川内に放出される遊走細胞数が低下する。

スジアオノリの遊走細胞の放出は、潮汐(Christie and Evans 1962, Pandy and Ohno 1985), 水温(團ら1998), 塩分(Dan *et al.* 2002)などに支配されているが、特に水温による制限が大きい。吉野川では、冬漁期であると25~20℃の範囲の水温が最も遊走細胞が放出されやすいが、この水温帯は9月中旬から10月中旬であり、水温が降下するにつれ放出量は少なくなる。冬季になると放出量が非常に少なくなるのは、水温による制限を受けているものと思われる。冬漁期は11月末まで天然採苗ができるため問題は少ないが、春漁期は採苗時期である3~4月に河川水温が低く、まだ適水温に達していないため、採苗から養殖までの期間が長くなり、芽付きの薄い網ができるこ

とが多い。漁業者の経験からも、春漁期は天然採苗が難しいと言われている。

- 3) 自生藻体の死滅、減少により河川内に放出される遊走細胞数が低下する。

漁期前及び漁期始めの長雨により、吉野川河口域が長期間、漁場が低塩分化し自生アオノリがほとんど死滅するため、放出される遊走細胞量が減少し天然採苗が不調となることがある。

- 4) スジアオノリ以外の海藻の生殖細胞が付着し、製品の品質の低下を招く。

同じ種場であっても河床の低い場所で採苗した場合などは、ウスバアオノリ、アオサ等の生殖細胞が付くことがある。また、同じスジアオノリであっても品種(水温により成長速度が違う群)が存在する。低水温で成長するスジアオノリを高水温で養殖を開始すると、先端部が成熟し流出する現象が起きやすい。このように、目的とするアオノリ以外のものが付くと、生産に大きな影響を与える。

このような天然採苗の問題点を踏まえ、スジアオノリ養殖生産の安定を図るための研究を行った。本節では、天然採苗に代わる人工採苗について述べるが、人工採苗技術の中心となるものは第3章で述べた藻体細断による成熟誘導技術である。併せて、人工採苗を行うための藻体の確保、人工採苗のために必要な藻体量、遊走細胞の遊泳時間と採苗時間について検討を行い、人工採苗の手順を示した。最後に、人工採苗と天然採苗の比較を行い、それぞれの特徴を生かした採苗法について検討を加えた。

表6-1-1 スジアオノリ藻体の保存条件

保存温度	(℃)	-10,	0,	20,	30
保存期間	(月)	2,	4		
光		有り (8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$),	無し (暗)		
培養水		培養水中,	湿潤,	乾燥	

-10, 30℃の保存条件では、光は無し(暗)の条件下で行った

1 人工採苗に用いる藻体の保存

徳島県吉野川におけるスジアオノリの漁期は冬と春の年2回あり、それぞれの漁期ごとに採苗を行う必要がある。しかし、第2章第1節で述べたように、天然でのアオノリの繁茂は冬から春に多く、8~9月の秋口にはほとんど見られないため、冬漁期の場合は人工採苗に用いるための自生の藻体が確保できないことがある。このため、必要な藻体を事前に保存しておくための技術開発を検討した。

材料及び方法

保存に用いたスジアオノリ藻体は、吉野川河口域で春

季に自生していたものを用いた。藻体長 360～960 mm、藻体幅 2～3mm の藻体を 70 本用いた。保存条件は表 6-1-1 に示したが、温度、期間、光及び培養水の有無について検討した。なお、保存試験区ごとに 5 本のスジアオノリ藻体を用いたが、培養水中に保存する場合は 20 psu の海水の入った 50 ml の透明なスクリー管瓶に入れた。培養水に入れず湿潤状態で保存する場合には藻体表面の水分をふき取った状態で密閉できるチャック付のビニール袋になるべく空気を残さないように入れて、更にその袋をスクリー管瓶に入れて密封した。また、藻体表面の水分をふき取った状態から、更に湿重量で 20～30% 減となるように乾燥による脱水を行って保存した場合も、湿潤の場合と同様の処理をおこなった。2ヶ月及び4ヶ月の保存終了後、藻体から直径 0.9 mm のディスク 24 枚を切り出し、各ウエルに 0.6 ml の塩分 20 psu の海水を満した 48 穴組織培養用マイクロプレートにディスクを 1 枚ずつ入れた。ディスクの入ったマイクロプレートを温度 20 °C、光量 20～25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期 12 時間明期、12 時間暗期) 下に置き、4 日後にディスク組織の 50% 以上の細胞が成熟したディスクの割合を成熟率とした。また、保存期間 4ヶ月後の藻体については仮根を形成したディスクの割合も求めた。

結果及び考察

表 6-1-2 に保存終了後の藻体を直径 0.9 mm のディスクに切り出し、培養した後の成熟率、仮根形成率を示した。5 °C 保存で光があり培養水中に入れるか湿潤状態での保存した場合は 4ヶ月まで成熟誘導が可能であった。また、20 °C 保存で光があり培養水中に入れた場合も 4ヶ月まで成熟誘導が可能であったが、湿潤状態で保存の場合は 2ヶ月までであった。それ以外の、条件では保存はできなかった。

新崎 (1946) は、アオノリの環境への耐性は藻体の体が小さいほど高いと報告している。また、アオノリの遊走細胞を暗黒下に置き、その生存率を調べたところ 6ヶ月間の生存が可能であった (新崎 1953)。しかし、この実験に用いた大型の藻体は長期間の暗黒下での生存は難しいことが分かった。仮根形成率は、藻体活性の判断材料として用いられており (Reed and Russell 1979)、4ヶ月保存後の再生産力が最も高いのは 5 °C の培養水中で保存した場合ということになる。20 °C の培養水中での保存では、仮根形成率は 0% であったが、成熟したディスクの割合は 79% と高率であった。第 4 章で述べたように、孢子形成阻害物質は成熟開始とともに藻体内での分泌は止まり、後は減少してゆく。2ヶ月よりも 4ヶ月保存後の成熟割合が上昇しており、保存期間中に孢子形成阻害物質が減少していると考えられた。人工採苗に用いるための藻体の保存は、5月に保存を開始するとして 9月までは保存できなくてはならない。今回の結果から、5 °C 及び 20 °C での培養水中で光がある条件、または 5 °C の湿潤状態で光がある条件の保存であると 4ヶ月間可能であることから、9月からの人工採苗のための母藻としては春漁期の養殖終了時に母藻を確保することが適当であると考えられた。また、収納等の実用性から考えると、5 °C の湿潤状態での保存が最適であると判断された。

2 人工採苗のためのタンク投入藻体量

スジアオノリの成熟は、孢子形成阻害物質の量により支配されていることが第 4 章で述べられている。人工採苗は藻体を細かく細断して成熟を誘導するものであるが、細断後の藻体片内にも孢子形成阻害物質は含まれている。このため細断後の藻体片を培養する水量と藻体の量との

表 6-1-2 様々な保存条件下でのスジアオノリのディスクの成熟率と仮根形成率

保存	温度	光	培養水	2ヶ月保存後		4ヶ月保存後	
				成熟率 %	成熟率 %	仮根形成率 %	
-10 °C	暗		乾燥	*	*	*	
			水中	50	50	96	
			湿潤	50	63	27	
	5	明	乾燥	*	*	*	
			水中	*	*	*	
			湿潤	*	*	*	
20	暗	乾燥	*	*	*		
		水中	8	79	0		
		湿潤	46	*	*		
	明	乾燥	*	*	*		
		水中	*	*	*		
		湿潤	*	*	*		
30	暗	乾燥	*	*	*		

*、死亡

関係を調べることは人工採苗を行う上で重要である。孢子形成阻害物質が培養水に対し、どの程度の藻体量で成熟を阻害する濃度になるのか検討した。

材料と方法

用いた藻体は、藻体長600 mm以上の孢子形成阻害物質が十分に蓄積されていると考えられる培養藻体(第4章)を用いた。5, 10, 15, 20, 40 g(湿重量)の藻体をブレンダーで2~7 mmの葉片に細断し、海水で洗浄した後、塩分22 psuのPES培地10 lを入れた5槽の透明水槽に入れた。容器は22℃, 光量25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)の条件下に置き2日間通気培養した。3日目の朝に、塩分22 psuの海水100 lを満たした5槽の透明水槽を屋外に設置し、通気した。この水槽へ室内で培養した藻体片を含む培養水を注ぎ込み、10分間遊走細胞の放出を待った。この時の水温は、22.1~23.0℃であった。その後、各水槽中に放出された遊走細胞数を血球計数板で計数した。

結果及び考察

培養水10 lに対し藻体片10 gを入れた場合に43,000個体/mlと最も放出量が多い結果となった(図6-1-1)。これよりも少ない場合、多い場合とも遊走細胞量は減少した。つまり、10 gまでは藻体の細断片から流出する孢子形成阻害物質の量に対し培養水の量が多く、孢子形成阻害を起こす濃度に達しないが、10 gを越えると孢子形成阻害物質が効いてくるものと推察された。

人工採苗を行う場合、普通100 l程度の小型水槽で成熟促進を行うことが多いが、この場合100 gを越えて藻体を入れると成熟阻害が起こり、十分な遊走細胞量が得られなくなる可能性がある。徳島県の養殖漁業者が屋外で通常行っている、簡易な人工採苗の方法である1トンのタンクに細断した藻体と養殖網を一緒に入れ採苗する場合であると、1 kgを越えて藻体を入れない限り、成熟阻害は起きない量であるため、通常の場合はあまり問題となることはないと考えられた。

3 水温、塩分、光量が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響

人工採苗は外気温が遊走細胞放出に好適とされる20~25℃の時期におこなう場合は、水温は問題とならないが、春漁期に向けての気温が低い3月に採苗する場合には問題となる。低水温、または高水温での遊走細胞遊泳時間はどのように変化するのか、また、塩分濃度と光量の違いが遊走細胞の遊泳時間に、どのような影響を与えるのかを知ることは、人工採苗での採苗時間を決定する上で

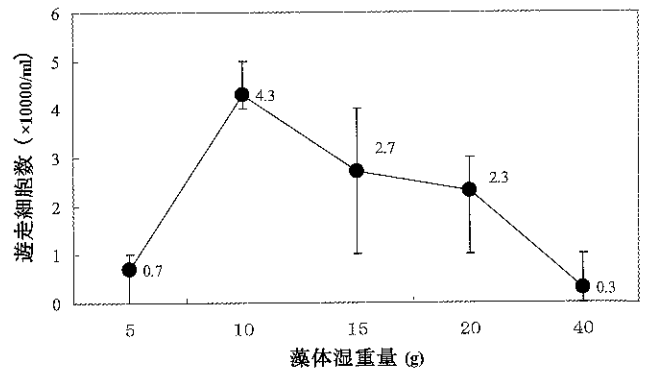


図6-1-1 藻体の湿重量と放出された遊走細胞の量との関係。黒丸(●)は、放出された遊走細胞の平均値を、垂直の棒は、最低値と最高値を示している。

重要である。このため、スジアオノリの人工採苗を行う上で、水温、塩分、光量が放出された遊走細胞の遊泳時間にどのような影響を及ぼすのかについて検討した。

材料及び方法

スジアオノリ藻体を細断することで成熟誘導を行い、遊走細胞液を作成した。遊走細胞液の塩分は塩分の実験以外は22 psuとした。遊走細胞液を塩分22 psuの海水または蒸留水で希釈し、16,000~19,000個体/mlの遊走細胞液濃度とした。塩分を違えた実験では、1.7, 4.9, 8.0, 13.8, 20.1, 25.4, 32.3 psuの塩分の遊走細胞液を作成した。この遊走細胞液を0.1 mlずつとり、48穴マイクロプレートへ入れ、30分ごとに全遊走細胞数の半数または全数が活動を停止する時間を記録した。マイクロプレートは遮光して静置したが、温度の実験区だけは遮光しないものも設定した。温度の実験以外は25℃とし、温度の実験は10, 15, 20, 25, 30℃とした。光量は、光量の実験以外は50 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ とし、光量の実験では0, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ を設定した。

結果および考察

有光下での、温度が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響を図6-1-2に示した。30℃では3時間で半数の遊走細胞が停止し、4.5時間で完全に遊泳を止めた。温度が低くなるにつれ遊泳時間は長くなり、15℃以下では半数停止までの時間は6時間となり、さらに完全に停止するのは10時間以上必要であった。暗黒下では、光がある場合に比べて全ての温度帯において停止の時間が長くなり、低い水温ではその差が広がる傾向にあった。

塩分が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響を図6-1-3に示した。塩分が7.9 psu以下では、遊泳時間は急激に短くなり、とくに塩分1.7 psu(1%海水)では、1時間以内に遊泳は停止した。塩分13.8 psu(40%海水)以上では、半数遊泳停止時間5.5時間で、温度の実験での5.5時間と同じ結果となった。

光量が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響を図6-1-4に示した。5 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で半数停止時間が4.5時間となり、

光量が $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ まで上昇しても半数停止時間に変化はなかった。また、この値は温度での実験の5.5時間と近いものであった。

通常、人工採苗を行う場合は屋外で水槽を用いて行われる。冬漁期であると、水温は $25 \sim 15^\circ\text{C}$ となり、この実験の結果からは、遊走細胞が半数停止する時間は5~6時間、全数停止する時間は6.5時間以上となる。このことは、放出直後の遊走細胞液では短時間での採苗ができず、採苗にはある程度の時間が必要であることを示している。採苗には遊走細胞の半数停止時間程度が必要であるならば、放出から約半日は採苗水槽に養殖網を漬けておかなければならないことになる。有光下より暗黒下では遊泳時間が長くなる傾向があり、とくに低水温ではより長くなる傾向がある。今回の実験には入っていないが、 5°C の暗黒下に遊走細胞液を静置しておいた場合、3日間遊走細胞の遊泳が見られたという興味深い結果を得ている(團未発表)。このことは遊走細胞液のストックも可能であり、さらに応用面での進展が期待されるが、長時間遊泳後の生殖細胞の発芽やその後の成長の確認を行う必要がある。遊走細胞液の塩分は $13.8 \sim 32.3 \text{ psu}$ で正常な遊泳時間を示すことが分かったが、これは藻体の遊走細胞放出のための最適な塩分 $13.2 \sim 45.3 \text{ psu}$ の範囲 (Dan *et al.* 2002) に含まれている。光量と遊走細胞の遊泳時間では、光の有無により大きく変わり、暗黒下では遊泳時間が長くなった。しかし、光量が $5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上ある場合は光

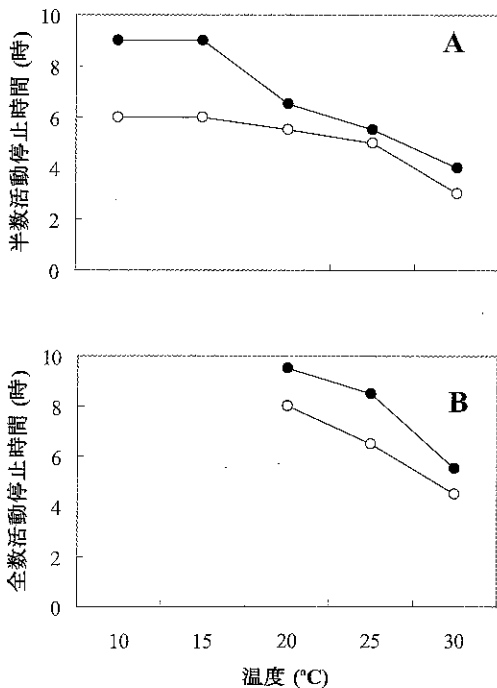


図6-1-2 光の有無と、温度が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。A；半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間。B；遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。黒丸(●)は、暗黒条件下、白丸(○)は、光が有る条件下での数値を示す

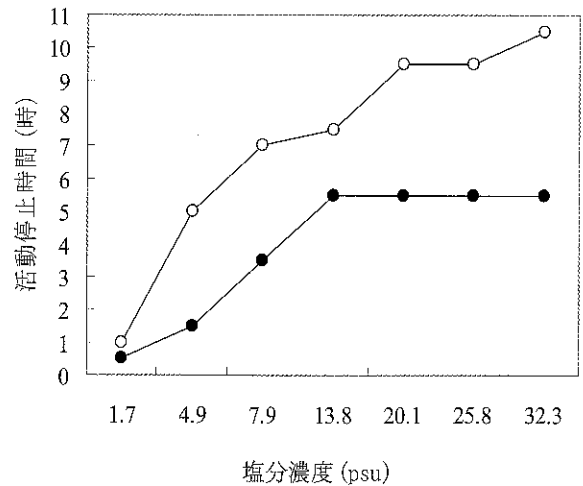


図6-1-3 塩分が、遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。黒丸(●)は、半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間、白丸(○)は、遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。

量が増加しても一定の遊泳時間となる。人工採苗は屋外で行うので、通常は遮光しない限り問題はないと考えられた。

4 人工採苗における孢子着生時間の検討

前項で、 $10 \sim 25^\circ\text{C}$ の水温、 $13.8 \sim 32.3 \text{ psu}$ の塩分、 $5 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上の光量であるならば放出された遊走細胞の半数が停止する時間は5~6時間必要であり、比較的長時間泳いでいることが分かった。人工採苗を行うための採苗時間は遊走細胞の遊泳時間より推測できるが、どのくらいの時間でどの程度の遊走細胞が基質への着生がみられるのか養殖網系を使い実験を行った。

材料及び方法

20°C の恒温室内で、塩分濃度 22 psu の遊走細胞液 500 ml が入ったピーカー用意し、アルミ箔で被い遮光した。遊

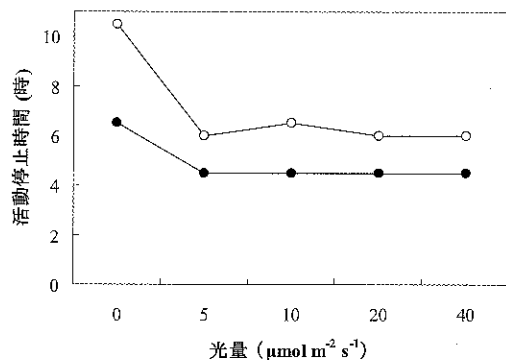


図6-1-4 光量が、遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。黒丸(●)は、半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間、白丸(○)は、遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。

光により遊走細胞の遊泳時間が長くなるが、水中の遊走細胞の均一性を保つために暗黒条件にした。この中に、5 cmに切った直径2 mmの14本のビニロン糸(クレモナ)を水中に吊すように入れた。遊走細胞液は採苗実験時間中、微通気した。採苗時の遊走細胞濃度は、30,000個体/mlであった。種苗糸は、15, 30, 60, 90, 120, 180, 240分ごとに2本ずつ取り出し、別の塩分22 psuのPES培地が300 ml入ったビーカーに入れ10日間培養した。培養中は、室温20℃、光量20~25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (12時間明期, 12時間暗期)とした。培養後に、1 cm当たりの着生藻体数を計数した。

結果及び考察

採苗時間が長くなるほど藻体数が増加して行く傾向になった(図6-1-5)。しかし、120分までは非常に少ない藻体数であり、180分以上になって1cm当たりの藻体数が200本以上となり、大幅に増加してきた。養殖スジアオノリでは、1cm当たり150本以上の藻体数があれば最大収量をあげられる(第6章3節)ため、人工採苗にかかる時間は180分以上必要となることが分かった。この実験は、遊走細胞の付着を均一にするため遮光条件下で行ったため、遊走細胞の遊泳時間はやや長くなっており、実際はもう少し短時間で採苗できる可能性がある。人工採苗時には網糸に均質に採苗することを目的に頻りに網返しを行っているが、この結果からは2時間まではそれほど行わなくても良く、少なくとも最初の1時間までは網返しは必要ないと考えられた。

5 スジアオノリの人工採苗の手順

第3章により人工採苗を行うための成熟誘導条件が明らかにされている。これによると、遊走細胞放出のための最適な藻体片の大きさは直径0.9 mmであり、温度は20~25℃の範囲、塩分は13.2~45.3 psuの範囲、光量は16 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上とされている。これらの結果に、前項までの結果を加え人工採苗の手順を以下に示した。

人工採苗を行うに当たり最も大きく影響するのは温度である。藻体を成熟させるには、20~25℃が最も適しており、屋外で採苗する場合は低温時が問題となる。これを解決するためには、「温度の高い場所で成熟させる」、または、「採苗に適した時期にまとめて採苗しておき、種網を保存しておく」という2つの方法が考えられる。後者の種網の保存については次節で述べるので、ここでは漁期中に人工採苗をおこなう方法を述べる。人工採苗の方法は、培養水温を20℃付近に人為的にコントロールすることにより、どの時期でも採苗できる方法と、その時の外気温の成り行きに任せる方法がある。

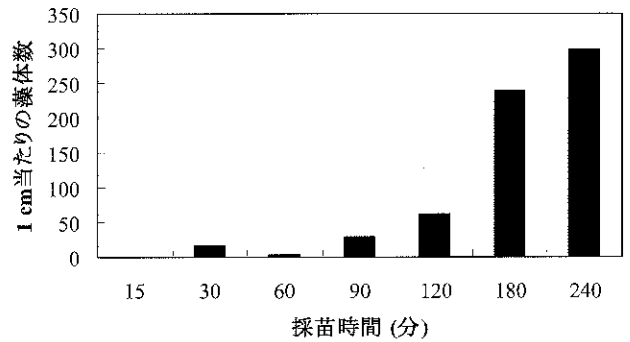


図6-1-5 採苗時間と藻体数(本数/cm)との関係

(1) 水温制御方式による採苗法

成熟促進と採苗とを別の水槽で行う方法である。恒温状態が可能な室内に成熟促進水槽を置き水温を20℃付近に調整し成熟促進を行った後、培養水を屋外の採苗水槽に入れ遊走細胞を放出させ、採苗を行う方法。成熟し、遊走細胞が放出される状態となっていれば、採苗水槽の水温が低くとも遊走細胞は放出されるが、採苗のための時間が長くなる。以下に、1トンの採苗水槽で養殖網10枚を採苗する場合の手順を示した。図6-1-6に手順を図示した。

① 細断用藻体の準備

藻体の保存のために、天然の藻体である場合は表面に付着した泥など海水で十分に洗浄し、採取してからできるだけ短時間のうちに保存する。保存条件は、藻体の表面の水分をふき取った状態でビニール袋等に密封し、5℃、8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 程度の低光量下で保存した場合、4ヶ月間は人工採苗のための藻体として使用できる。

② 藻体細断

スジアオノリ藻体50g(湿重量)をブレンダーで1~7mmの藻体片になるまで細断する。細断片のサイズが小さくなるほど、良好な遊走細胞の放出が見られる。

③ 細断藻体片の洗浄(胞子形成阻害物質の洗浄除去)

20 μm 程度の目合いのネットで細断後のスジアオノリ藻体片を受け、海水で洗浄する。約10分程度流水の海水で洗浄する。スジアオノリ藻体の2層構造の内側に胞子形成阻害物質が多く蓄積されていると考えられるので、この洗浄作業が人工採苗の工程上重要である。

④ 成熟促進

表6-1-3に成熟促進のための培養条件を示した。100 lの透明な水槽に、塩分濃度20 psuの海水を満たし通気する。これに、洗浄後の藻体片を入れ成熟促進を行う。成熟誘導水槽は、外気温が15~25℃の範囲である場合は屋外に置いて可能であるが、外気温が15℃以下となる時期には室内に置き、室温を20℃に合わせる。成熟促進水槽の水量と必要とするスジアオノリ藻体量(湿重量)の

関係および採苗水槽の水量を表6-1-4に示した。

⑤ 成熟促進中の処理

成熟促進のため、成熟促進水槽で2～3日間通気培養する。可能であれば、20 μm程度の目合いのネットで培養水を受け藻体を洗浄し、培養水を毎日(9:00頃)交換する。細断後、2日目からは換水の前に顕微鏡で培養水中の藻体片からの遊走細胞の放出を確認する。放出された遊走細胞の量が多い場合は、ペトリ皿等の透明容器に培養水を入れておくと光の方向か、または反対方向に集まった淡緑色の遊走細胞の集まりが肉眼視することができる。放出が見られない場合は、洗浄、換水を行う。通常、3日目の朝に大量の放出が見られる。

⑥ 採苗作業準備

遊走細胞の大量放出が確認されれば採苗作業の準備を行う。1トンの透明な水槽(採苗槽)に塩分20 psuの海水を満たし、強い通気を行う。採苗槽の設置場所は太陽光の直射が充分にある場所とする。

⑦ 遊走細胞放出(放出同調)と採苗

藻体片を含んだ成熟促進水槽の培養液を採苗槽に入れ、遊走細胞を放出させる。成熟誘導された藻体片は、光と培養液が希釈されることによる刺激により大量の遊走細胞が同時に放出される。10～30分間で放出が完了するので、その後、養殖網を10枚入れる。網数は10枚以上入れることも可能であるが、その場合、網返しを多く行う必要がある。

⑧ 採苗(遊走細胞の付着)

網を入れてから3～6時間で十分な遊走細胞の付着が得られる。遊走細胞の遊泳時間は、水温により変化するので時期(外気温)により採苗時間は異なる。網返しは1時間に1回行い、遊走細胞付着の偏りを防ぐ。

⑨ 採苗後の処理

採苗の終わった網はそのままにしておくか、同じ塩

分の海水を満たした別の水槽に入れ、翌日以降に養殖場に張り込む。十分な広さの水槽がある場合は、発芽させて養殖場へ張り込めば、より確実性が高まるが、翌日に養殖漁場へ1枚張りしてもほとんど問題はない。

(2) 非水温制御方式による採苗法

成熟促進と採苗とを1つの水槽で行う採苗法である。徳島県では外気温が9～10月中旬に25～15℃の範囲となり、水槽を屋外に放置しても、ちょうど成熟促進に適した水温となるため、次の方法で行うことができる。ただし、この方式では外気温の成り行きに任せるので上記時期をはずれると非常に遊走細胞の放出が悪くなる。以下、1トンの採苗水槽で行う場合を示した。

① 藻体細断

スジアオノリ藻体50g(湿重量)をブレンダーで1～7mmの藻体片になるまで細断する。

② 細断藻体片の洗浄

20 μm程度の目合いのネットで細断後のスジアオノリ藻体片を受け、海水で洗浄する。

③ 採苗

塩分20 psuの海水を満たした1トンの透明水槽を屋外の太陽光の直射の当たる場所に置く。これに細断し洗浄した藻体片を入れ、通気しながら2日間置いておく。2日目の夕方か3日目の朝に養殖網を10枚入れる。1日で採苗は完了するが、同じ水槽で何回も採苗を行う場合には2回目以降は1回の採苗に2～3日かけたほうが良い。アオノリの藻体は一度に全部が成熟するわけではないので、採苗に時間をかければ2週間程度は採苗可能である。1トン水槽に入れる網数は10枚程度が良く、多く入れると水槽内のアオノリ藻体片に光が当たらなくなり、胞子形成が阻害されることがある。

④ 採苗後の処理

表6-1-3 スジアオノリ藻体の成熟のための最適条件

温度	20 ～ 25 °C
塩分	20 ～ 32 psu
光量	16 μmol m ⁻² s ⁻¹ 以上必要
通気の有無	有り

表6-1-4 成熟促進水槽の水量と必要とするスジアオノリ藻体量(湿重量)の関係及び採苗水槽の水量

藻体湿重量 (g)	成熟促進水槽の水量 (L)	採苗水槽の水量 (L)
25	50	500
50	100	1000

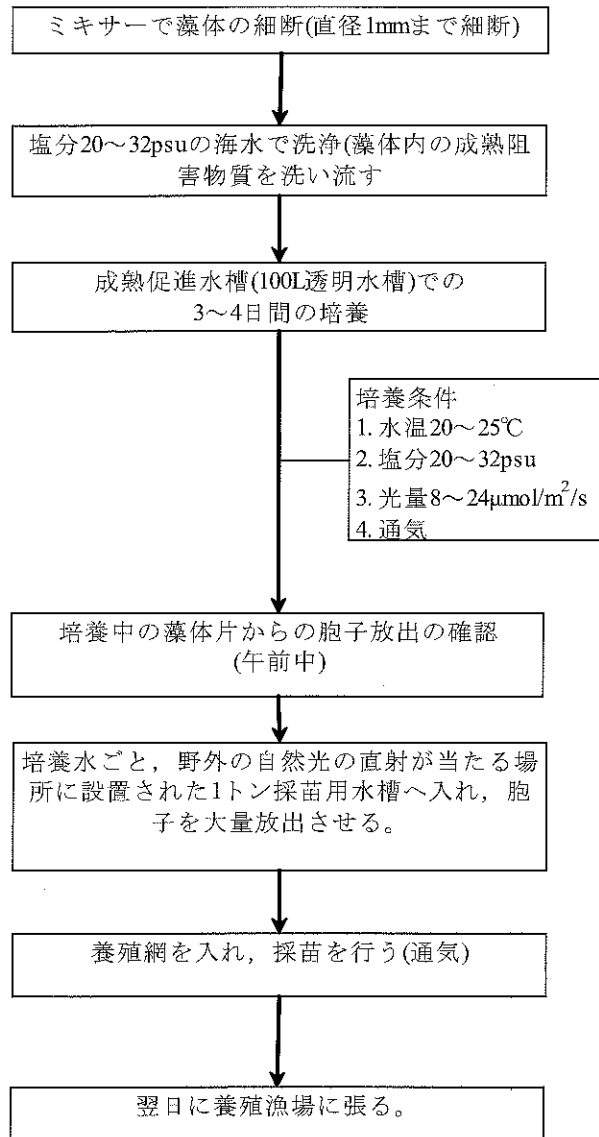


図6-1-6 スジアオノリ人工採苗のための手順(1トンの採苗水槽で養殖網10枚を採苗)

採苗の終わった網はそのままにしておくか、同じ塩分の海水を満たした別の水槽に入れ、翌日以降に養殖場に張り込む。

法について、それぞれの特徴を生かした利用法について検討した。

材料及び方法

養殖漁場環境

1997年10月から1998年1月まで、及び1998年10月から1999年1月まで毎月2回小潮時に、吉野川に流れ込む支流との合流点に形成される砂州周辺にある天然採苗場(図6-1-7)で、船上からSTD(アレック電子社製AST-1000M)を降ろし、水面下50cmの水温、塩分の観測を行った。また、1997年及び1998年の11月1日から11月25日まで図6-1-7に示した試験養殖漁場に連続水温塩分計(アレック電子社製ACT-16K)を設置し、水面下80cmの水温、塩分を20分間隔で測定した。

6 アオノリ養殖における2種の採苗法の比較

人工採苗は、何らかの原因で天然の遊走細胞の供給が少ない場合、または、優良な品種が開発され、目的とする品種を採苗したい場合などに有効である。また、従来から行われている天然採苗は方法が簡便であるため、養殖漁場の環境が良好な時には優れた方法である。本報告では、徳島県吉野川漁場における1998年冬漁期において、人工採苗及び天然採苗の2つの方法によるスジアオノリの成長を比較し、今後のアオノリ養殖における2種の採苗

天然出現遊走細胞量

毎年採苗の季節になるとスジアオノリの遊走細胞が大量に放出される天然採苗場(図6-1-7)において、自生のスジアオノリから放出された遊走細胞の量を測定するために、付着基質として河床に打ち込んだ杭に河床から上方に直径2 mmのクレモナ糸を取り付けた。クレモナ糸は1997年11月1日から11月18日までと、1998年10月5日から1999年1月12日までの間、1潮ごと(大潮または小潮から次の潮まで)に新しく交換された。糸を回収後、河床から上方50 cmまで、5 cmの等間隔で10箇所を1 cmずつ切断し、組織培養用24ウエルマイクロプレートの各ウエルに切断した糸を1本ずつ入れた。各ウエルには10 mlずつの二酸化ゲルマニウムを添加した塩分20 psuのPES培地を滴した。マイクロプレートは、光量 $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)で 20°C に設定した人工気象器に置かれた。7日間培養した後、実体顕微鏡下でそれぞれの糸を、できるだけ分解し、発芽したアオノリ幼芽を全て計数し、10箇所分の発芽数の平均を算出した。

採苗法

採苗法によるスジアオノリの成長を比較するために、採苗方法を違えた2種の網(人工採苗, 天然採苗)及び対照区として何も付けていない網を用い養殖試験を行った。

(1) **人工採苗**: 1998年5月に吉野川で採取したスジアオノリを 5°C 、光量 $20 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)の人工気象器内で保存しておいたものを母藻として用いた。1998年10月28日に5 gの藻体をミキサーで細断し、塩分20 psuの海水で充分洗浄した後、10 lの透明水槽に入れ、通気を行いながら10月31日まで成熟促進のための培養を行った。10 lの水槽は光量 $40 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)、 20°C の恒温室に置かれた。10月31日の朝、藻体片を含んだ培養水を光学顕微鏡下で検鏡し、遊走細胞の放出を確認した後、塩分22 psuの海水を滴した100 l透明水槽に藻体片を含ん

だ培養水を注ぎ込んだ。水槽は太陽光の直射の当たる場所に設置されており、強光による刺激と培養水が希釈されることにより、遊走細胞の大量放出が誘導された。この時の、遊走細胞濃度は $10,000$ 個体/mlであった。培養水注入後、約20分でスジアオノリ遊走細胞が十分に放出されたので、養殖網(幅1.8, 長さ20 m)1枚を遊走細胞液中に入れ、通気を行いながら4時間採苗を行った。採苗終了後は、塩分22 psuの海水を滴した500 l明水槽へ網を移し、通気を行いながら翌日まで培養した。

11月1日に種場の支柱張り漁場へ人工採苗した網を設置した。当日、最干潮時の河川水の表層塩分が9 psuと低かったため、網を設置する高さは漁業者が設置する高さ(河床から50 cm)より低く設定し、河床から4~5 cmの位置に設置した。

(2) **天然採苗**: 11月1日に新しい養殖網1枚を人工採苗網に隣接して同じ高さに設置し、種場で天然に供給される遊走細胞により採苗した。

養殖法

11月6日に種場に張り込んであった人工採苗網と天然採苗網が試験養殖漁場へ移され、養殖セットにそれぞれ一枚張りされた。人工採苗網と天然採苗網が漁場に張られた時に、対照区として新しい養殖網1枚が一枚張りされた。それぞれの網の張り込み水深は水面下50 cmであった。試験養殖は11月6日から11月25日までの20日間行われた。11月25日に各網について平均的なスジアオノリの成長が見られる部分3箇所から藻体を網糸ごと1節ずつ採取した。測定は、採取した網糸1節を1 cmに切断し、藻体長別(50 mm以上, 2~49 mm, 2 mm未満)の個体数を計数した。同時に、2 mm以上の藻体全数の藻体長を測定するとともに、先端部の成熟状況を調査し、全体中の成熟割合を求めた。また、採取された3節分全ての藻体を熱風乾燥機で3日間乾燥した後、網糸1 cm当たりの乾燥重量を求めた。

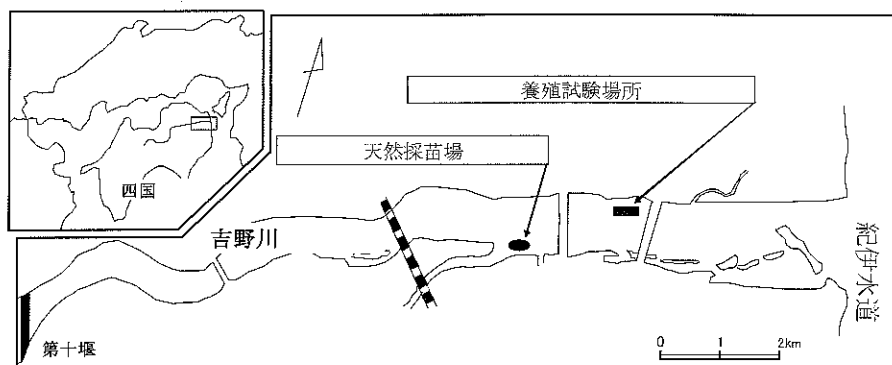


図6-1-7 吉野川河口にあるスジアオノリ養殖場と天然採苗場

結 果

考 察

養殖漁場環境

図6-1-8に1997年秋漁期(1997年10月から1998年1月まで)、及び1998年秋漁期(1998年10月から1999年1月まで)の天然採苗場での水温、塩分観測結果を示した。1997年秋漁期の水温は、やや変動しながら低下する傾向にあったが、1998年秋漁期はむしろ順調に低下した。1997年秋漁期の塩分は10月上旬に9.4 psuと低い値であったが、10月下旬から1月上旬まで14.2~25.6 psuの範囲で推移した。1998年秋漁期では、10月中は3.3~4.3 psuと非常に低い塩分であった。しかし、11月に入り速やかに回復し、1月下旬まで17.3~27.5 psuの範囲で推移した。図6-1-9に1997年及び1998年の11月1日から11月25日までの試験養殖漁場における水温、塩分の日平均の推移を示した。水温は、1997年は15~18℃の範囲で大きな変動なしに推移した。1998年は20℃から15℃へと順調に低下した。塩分は、1997年は25.9~27.5 psuの範囲で安定した推移を示した。しかし、1998年では、11月1日は16.6 psuと通常の吉野川スジアオノリ養殖漁場の塩分(高木ら2000)より低い値であったが、その後塩分は急速に上昇し、試験養殖開始の11月6日には23.3 psuに回復した。

天然出現遊走細胞量

図6-1-10に種場の水域に放出された遊走細胞量を反映したものとして、1 cm当たりの平均発芽数の推移を示した。1997年は、11月1日から18日までの短期間の調査であったが、592~3476個体の範囲で発芽体が見られた。1998年では、10月中は4~14個体であったが11月に入り増加し、調査期間中最大の437個体となった。しかし、12月に入ると漸減してゆき、調査終了時の1月には63~75個体となった。

天然と人工採苗によるスジアオノリの生育比較

図6-1-11に11月25日採集時の藻体を示した。また、図6-1-12に11月25日の採集時の網糸1 cm当たりの藻体長別個体数、乾燥重量、平均藻体長を示した。網糸1 cm当たりの藻体数では、人工採苗が305個体、天然採苗が91個体、対照区が26個体であり、人工採苗は天然採苗に比べ3.4倍であった。藻体長別の組成は、藻体数が増加するにつれ2 mm未滴の微小な藻体が増加した。網糸1 cm当たりの乾燥重量では、人工採苗が45.9 mg、天然採苗が10.9 mg、対照区が0.2 mgであり、人工採苗は天然採苗に比べ4.2倍であった。平均藻体長では人工採苗が108 mm、天然採苗が76 mm、対照区が38 mmと収量が多いほど長くなった。先端部の成熟した藻体の割合は、人工採苗が16.2%、天然採苗が7.1%、対照区が33.3%であった。

1998年漁期の漁場環境の特徴は、水温は順調に低下しており、スジアオノリの生育にとって問題のない水温帯であった(Htun et al. 1986, Kim et al. 1996, 平岡他1999)。しかし、塩分は、9月下旬から10月中旬まで長期間、大量の降雨が続いたこと(図6-1-13)により天然採苗場の塩分が低下した(図6-1-7)。ボウアオノリ*E. intestinalis*では塩分10 psu以下では遊走細胞の放出はみられない(Christie and Evans 1962)。また、スジアオノリ藻体から遊走細胞が放出されるためには5 psu以上の塩分が必要であり(Dan et al. 2002)、1998年漁期では10月上旬の塩分が3.3 psu、下旬で4.3 psuといずれも5 psuを下回っている。1998年漁期の天然採苗場での遊走細胞供給量は、1997年に比べ非常に少なく、図6-1-14に示したように1998年漁期の徳島県漁連共販量(徳島県漁連共販量は徳島県スジアオノリ生産量とみなすことができる)は前年度に比べ大きく減少した。今回の人工採苗と天然採苗による養殖試験は低塩分となった漁場において実施され、人工採苗による網が天然採苗に比べ4.5倍の収量をあげた。このように、漁場の塩分が低下することにより天然での遊走細胞の供給が減った場合は人工

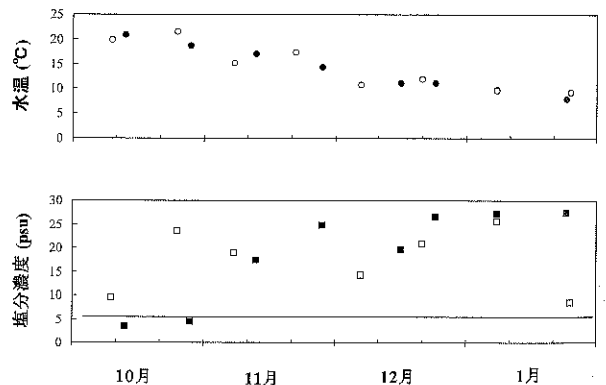


図6-1-8 1997年と1998年漁期の天然採苗場における水温と塩分の推移。○は1997年の水温を、●は1998年の水温を示す。□は1997年の塩分を、■は1998年の塩分を示した。図中の横棒は遊走細胞放出の限界塩分を示している(5psu)。

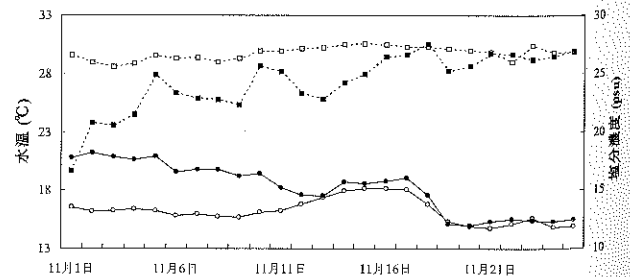


図6-1-9 1997年と1998年における、11月1日から25日までのスジアオノリ養殖場での水温と塩分の毎日の推移。○は1997年の水温を、●は1998年の水温を示す。□は1997年の塩分を、■は1998年の塩分を示した。

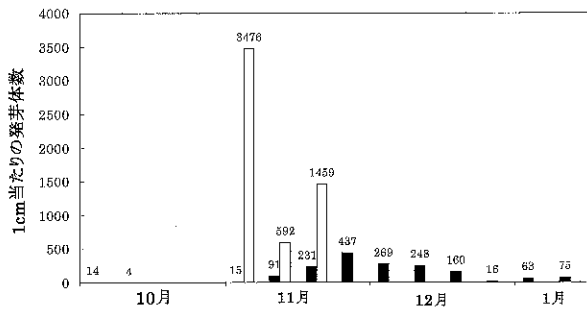


図6-1-10 1997年(□)と1998年(■)漁期において、種場水域に設置された糸上のスジアオノリ発芽体数の推移。

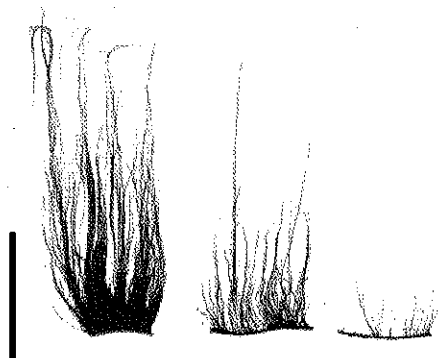


図6-1-11 1998年11月25日に試験養殖漁場から採集されたスジアオノリ藻体。写真左のスジアオノリ藻体は人工採苗，中央は天然採苗，右は対象を示している。垂直の棒は10cmを示す。

採苗が有効な方法であることが分かった。

次に、天然採苗と人工採苗の特徴を述べ、それぞれの利用法について述べる。天然採苗は川底に竹杭を立てて、それに養殖網を張り込んでおくだけで天然に供給されるスジアオノリ遊走細胞を採苗することができる。漁場環境が良好で天然での遊走細胞の供給が順調な時には、方法が簡便であるため、一度に大量の種網を作ることができる。スジアオノリの遊走細胞放出は、月齢、水温(團ら1998)、塩分(Dan et al. 2002)などに支配されており、条件が整わなければ遊走細胞供給が減少し天然採苗はうまく行かない。例えば、水温では15℃を下回ると遊走細胞の放出が少なくなるため、徳島県の吉野川での天然採苗は水温の低下する冬漁期では11月下旬までに終了し、春漁期では水温が上昇する3月下旬からでないと採苗を行うことができない。月齢による影響は通常漁場環境であれば養殖に支障がでることはないが、小潮時には遊走細胞放出量が減少する。また、天然採苗ではスジアオノリ以外の海藻の遊走細胞も付着することがあり、品質上問題がある。

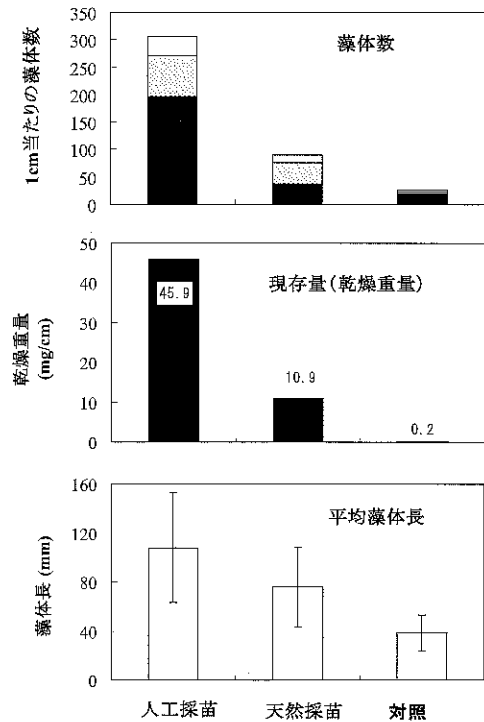


図6-1-12 2種類の採苗方法により採苗され、20日間試験養殖された後、11月25日に採集されたスジアオノリの藻体数、現存量、藻体長。上の図で、□は50mm以上の藻体数、■は2~50mmの藻体数、■は2mm以下の藻体数。下図で、垂直の棒は標準偏差を示す(全藻体数、人工採苗160本、天然採苗16本、対照7本)。

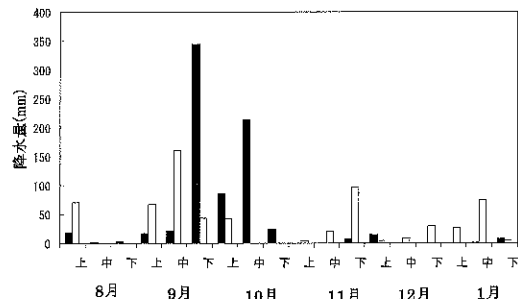


図6-1-13 1997年(□)と1998年(■)漁期において、養殖漁場に近い徳島市における降水量の推移。

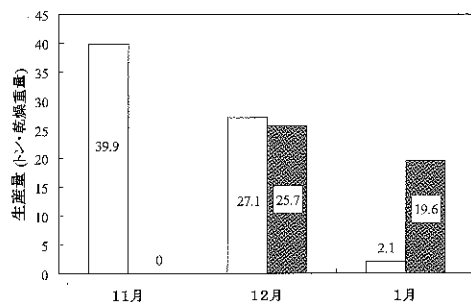


図6-1-14 1997年(□)と1998年(■)漁期において、徳島県におけるスジアオノリの月別生産量の推移。

人工採苗は陸上タンクで採苗するため、天然採苗ほど一度に大量の種網を作り出すことはできない。しかし、採苗のための条件を整えることにより、時期、場所を選ばず任意に種網を作ることができる。何らかの原因で天然の遊走細胞供給量が減少した場合、例えば今回の試験時のような漁場の低塩分の場合には、人工採苗は有効な方法である。もう一つ、人工採苗の優れている点としては、目的とするスジアオノリだけを採苗できることにある。

今後、スジアオノリで優れた品種ができた場合には人工採苗により種網を作成することになり、人工採苗の利用法としては最も重要になってくると考えられる。以上述べたように、天然採苗、人工採苗とも優れた特徴を持っており、今後は、その時の状況及び目的に応じ、二つの採苗法を使い分けてゆくことがスジアオノリ養殖にとって重要であると考えられる。

第2節 種網の冷蔵保存技術の開発

スジアオノリの養殖生産は人工採苗技術の導入により、それまでの天然採苗だけであった時期に比べ生産の安定化が図られている(團ら1997, 團ら2001)。人工採苗は母藻があれば任意の時期におこなうことが可能であるが、時期によっては母藻が入手できないことがある。また、成熟誘導には適度な水温が必用であり(團ら1998)、気温が低くなる冬季は屋外に設置した水槽の水温が下がるためヒーターなどで加温をする必要があり簡単におこなえない。このため、アマノリ類でおこなわれているような種網の保存技術があれば、漁期の始め幼葉であるうちに低温で成長を止めておき、再び漁場の生産力に応じて逐次出庫して生産対象とすることができる。アマノリ類やヒトエグサの養殖網の冷蔵・冷凍保存の研究事例は多くあるが(倉掛1969, 右田1964, 右田・潮田1975, 松岡1980)、アオノリ類に関する種網の保存に関する研究は見あたらない。本研究では、スジアオノリの着生した網を入庫するための生殖細胞及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、スジアオノリの種網保存方法を示した。

材料と方法

1. 幼葉保存における光、水分、温度の影響

徳島県吉野川河口より4 km 上流の地点から採取した天然スジアオノリを用いて人為的に成熟誘導をおこなうために、藻体を細断することで栄養細胞を生殖細胞嚢化させ、遊走細胞液を得た(團ら1997)。この遊走細胞液を塩分20 psuのPES培地に添加して充分に混合し、遊走細胞の密度を均一にした後、スライドグラス(76×26 mm)を敷いた直径20 cm高さ5 cmのガラスシャーレに注ぎ、24時間暗所に置いた。翌日、生殖細胞の付着

したスライドグラスを1枚ずつ直径9 cm高さ2 cmのシャーレに移し、25℃、25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)で2週間培養することにより葉長8.2~8.8 mmのスジアオノリ幼葉を得た。

スジアオノリ幼葉の保存実験は、表6-2-1に示したそれぞれの条件でおこなわれた。培地がない条件では直径3 cm、高さ12 cmの試験管に20 psuの海水を湿らせた濾紙で包んだ幼葉の付着したスライドグラスを入れ、試験管の口をパラフィルムで密封し湿潤状態で保存した。培地添加条件では、20 psuのPES培地が入った上述と同様の試験管に幼葉の生育したスライドグラスを入れ密封した。また、保存中の光は8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)とし、暗処理条件では試験管をアルミ箔で包んで遮光した。保存終了後、それぞれのスライドグラスを20 psuのPES培地が入った直径9 cm高さ2 cmのシャーレに1枚ずつ移し、20℃、25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (12時間明期, 12時間暗期)で1週間静置培養した後、葉体の観察をおこなった。なお、生死の判断は色素体の有無により判断した。

2. 葉体の成長段階と湿潤・暗処理の関係

吉野川天然葉体由来の系統株から成熟誘導をおこなって得た遊走細胞液を満した1000 mlのビーカー中で、太さ2 mm、長さ4 cmのクレモナ糸20本に採苗した。採苗は室温20℃の部屋でおこない、採苗開始後6時間で終了し、20 psuの海水で糸を軽く洗浄した後、20 psuのPES培地を満した直径20 cm高さ5 cmのガラスシャーレへ種苗糸を移し静置した。また、培養開始7日目からは200 mlのPES培地が入ったビーカーに種苗糸を一本ずつ入れ、通気培養を開始した。通気量は種苗糸がゆっくりと回転する程度とした。培養時の光量は25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ (光周期12時間明期, 12時間暗期)であった。

保存実験は表6-2-2に示した条件でおこなった。保存までの培養日数により保存時の葉長の大きさを調整し

表6-2-1 スライドグラス上に生育しているスジアオノリ幼体の保存条件

保存温度(°C)	-10,	0,	5,	10,	15,	20,	25,	30
保存期間(月)	2,	4,	6					
光	明(光量8 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$),			暗				
保存培養水	水中,			湿潤				
保存された幼体の大きさ(mm)	8.2-8.8							

表6-2-2 糸上のスジアオノリ幼体の保存条件

保存温度(°C)	5		
保存期間(日)	35		
光	暗		
保存培養水	湿潤状態		
保存されたスジアオノリの大きさ(mm)	細胞 ^{*1} ,	細胞 ^{*2} ,	8.3, 36.5, 75.5
標準偏差(S.D.)	0.7,	5.1,	11.0
本数(n)	20,	20,	20

*1 採苗4時間後の細胞

*2 採苗24時間後の細胞

た。採苗後4時間と24時間では糸に着生した生殖細胞で、採苗後17日では平均葉長8.3 mm、28日では36.5 mm、35日では75.5 mmで保存を開始した。保存容器は入庫時の大きさが生殖細胞及び葉長8.3 mmは10 mlのスクリー管ピンを、36.5及び75.5 mmは50 mlのスクリー管ピンを用いた。いずれの場合も空の容器内へ生殖細胞または成長した葉体の付いたクレモナ糸を入れ密封することで、湿潤状態で保存した。保存終了後、生殖細胞の場合は4時間及び24時間後保存とも40日間、8.3 mmサイズは23日間、36.5 mmサイズは12日間、75.5 mmサイズでは5日間、入庫前と同じ条件で培養された後、1 cm当たりの葉体乾燥重量を測定した。つまり、各サイズとも保存期間を挟み培養に要した日数は合計40日となるようにして結果を比較した。

3. 育苗期葉体での冷蔵保存

前記と同じ系統株を用い藻体細断により成熟誘導をおこない遊走細胞液を得た。採苗は屋外に設置した500 lの透明のポリカーボネイト水槽に20 psuの海水を満たし、遊走細胞液を注ぎ込んだ。これに、ノリ養殖網(幅1.8×長さ20 m)4枚を入れ、強い通気をおこないながら、5時間採苗をおこなった。採苗後、養殖網を20 psuの海水の入った100 lの透明ポリカーボネイト水槽4槽に、それぞれ移し水槽内で網が充分広がるように吊した。それぞれの採苗された網は保存までの間、屋外の太陽光の充分当たる場所に置かれた水槽内で通気をおこない育苗した。育苗用の水槽内の海水は市販ノリ糸状体培養用栄養剤(ポルフィランコンコ、協和発酵)を2000分の1となるよう添加し、1週間ごとに換水した。そのうちの2枚は採苗後8日目に吉野川の養殖場(図6-2-1)に展開し、そこで育苗した。

保存した種網は育苗期間、育苗方法を違えることにより葉長の異なる4種が作成された。保存開始時に平均的な葉体の成長が見られる部分の網糸を採取し網糸1 cm内にある長い葉長のものより50本の葉体を測定した結果、保存開始時の平均葉長と標準偏差は 1.7 ± 0.3 , 3.4 ± 0.8 , 15.5 ± 3.7 及び 64.0 ± 14.2 mmであった。

種網は5℃の冷蔵温度で光はない状態で保存した。保

存容器は縦60×横45 cmの厚手のビニール袋1枚を用い、その上から黒色のビニール袋を重ねた。滴下する水分がなくなった程度になった育苗後の養殖網を袋の中に入れ、更に塩分20 psu海水1 lを加え、ビニール袋の外から押さえながら網と袋との間にできるだけ空気が残らないようにして密封した。種網の保存期間は、41日間から49日間までであり、葉体が大きいほど保存期間が短くなった。

2000年11月21日に冷蔵保存された全ての養殖種網を取り出し図6-2-1にある試験養殖場に張り込んだ。同時に上記と同じ系統株を細断することにより成熟誘導した遊走細胞液から人工採苗した網1枚及び種苗の付いていない養殖網1枚も張り込んだ。それぞれの網の張り込み水深は水面下50 cmであった。この時、水面下1 mの位置に連続水温塩分計(アレック電子社製ACT-16K)を設置し、養殖実験終了時まで観測した。試験養殖は11月21日から12月22日までの1ヶ月間おこなった。また、種網を漁場へ張り込む前に網糸の一部を採集しておき、蛍光顕微鏡下で葉緑体の自家発光により生死を確認した。

12月22日に各網について平均的なスジアオノリの成長が見られる部分数カ所から葉体を網糸ごと採取した。葉長は網糸1 cm内にある2 mm以上の葉体を長い葉長のものより50本測定した。また、葉体本数は採取した網糸を1 cmに切断したものを、糸をできるだけ分解し発芽体まで含め全葉体数を計数し、これを5本分測定した。採取したサンプル全てを熱風乾燥機で乾燥させた後、網糸1 cm当たりの乾燥重量を求めた。

4. 生殖細胞段階での冷蔵保存

育苗期での冷蔵保存試験で設定していなかった、採苗直後の育苗をおこなわない生殖細胞段階での種網保存の可能性を確認するために、2001年秋に再度、野外養殖試験をおこなった。前年と同じ系統株を用い藻体細断により成熟誘導をおこない、得た遊走細胞液で採苗をおこなった。採苗は100 l透明ポリカーボネイト製水槽でおこない、通常の養殖網の半分の長さの網(幅1.8×長さ10.0 m)に採苗した。4時間採苗水槽に養殖網を入

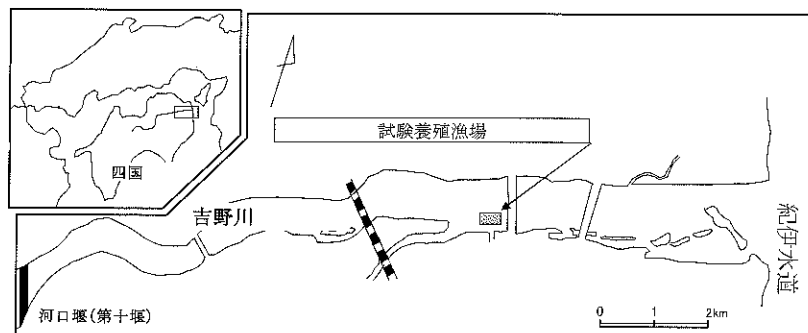


図6-2-1 徳島県吉野川河口に近い試験養殖漁場

れ、その後、20 psuの海水の入った別の水槽に移し、一晚静置した。翌日に前項と同様の方法でビニール袋に密封した(図6-2-2)。保存も前項と同様5℃で光のない条件でおこなった。

2001年11月2日に、42日間暗所保存しておいた種網



図6-2-2 ビニール袋に詰めたスジアオノリ生殖細胞が付着した冷蔵網の写真(2001年9月21日)。冷蔵温度は5℃。水平の棒は50 cmを示す。

を出庫し、養殖漁場へ輸送した。このとき、出庫後の養殖網と何も付けていない通常の養殖網の半分の長さの新しい網(対照区)とを結合させて20 mの長さの網とし、図6-2-1に示した試験養殖場に張り込んだ。張り込み水深は水面下50 cmで、養殖試験は12月4日までの32日間おこなった。養殖葉体の採集は試験終了時におこなったが、採集方法及び測定項目、測定方法は前項と同様とした。

結果

1. 幼葉保存における光、水分、温度の影響

保存終了後、再培養された葉体の観察結果を表6-2-3に示した。保存温度-10℃では培地のある、ない条件とも保存期間にかかわらず生存個体は見られなかった。

0℃では、保存期間2ヶ月で培養水のある、ない条件とも図6-2-3-Aに見られるように基部のみが生き残り、残った主枝から分枝が多数出て成長する形態が見られた。保存期間が長くなると、基部だけが生き残るということもなく生存個体は見られなくなった。5℃以上での保存では、保存期間が4ヶ月を越えると光のある保存条件下では図6-2-3Bに見られるように葉体全体から多数の分枝が見られ、また多数の仮根が見られることもあった(図6-2-3-C)。5および10℃の保存では、培地の有無にかかわらず光がある保存条件では、4ヶ月以上となると前述の多数の分枝や仮根を持つ発育を示すが、光がない条件下では、10℃で6ヶ月保存した場合を除き再培養後も正常な発育を示した。15℃以上の培地のない条件での保存では、15と20℃の光がない条件での2ヶ月保存の場合を除き、すべて死亡した。培地中での保存では、光がある場合は上述の異常発育がみられるが死亡個体はなく、光がない暗状態の保存では保存温度が高くなるほど、また保存期間が長くなるほど死亡個体が多くなった。

2. 葉体の成長段階と湿潤・暗処理の関係

保存、再培養を含めて40日後の1 cm当たりのクレモナ糸上に生育したスジアオノリの乾燥重量を図6-2-4に示した。生殖細胞で保存した場合が最も重量が大きく、保存時のサイズが大きくなるにつれ重量は減少した。生殖細胞での保存では、採苗4時間後と24時間後とは、差異はみられなかった。保存時のサイズが75.5 mmでは保存終了時に色素体の消失した褐色を帯びた葉体が多くみられた。各実験区とも再培養後の葉体は前項の実験で見られた多数の分枝や仮根を持つ個体は見られなかった。

3. 育苗期での冷蔵保存

図6-2-5に試験養殖期間中の養殖セットでの水面下1 mでの水温、塩分を20分間隔で測定した結果を示した。

表6-2-3 様々な保存条件で保存した後、再培養後のスジアオノリの幼葉の生残結果

保存状態	光	保存期間 (月)	保存温度 (°C)							
			-10	0	5	10	15	20	25	30
湿潤	明	2			+	+	-	-	-	-
		4			+※	+※	-	-	-	-
		6			+※	+※	-	-	-	-
	暗	2	-	+※	+	+	+	+※	-	-
		4	-	-	+	+	-	-	-	-
		6	-	-	+	-	-	-	-	-
培養水中	明	2			+	+	+	+	+※	+※
		4			+※	+※	+※	+※	+※	+※
		6			+※	+※	+※	+※	+※	+※
	暗	2	-	+※	+	+	+	+	-	-
		4	-	+※	+	+	+	-	-	-
		6	-	-	+	-	-	-	-	-

+ , 生存葉; - , 死亡葉; +※ , 異常な成長を示した葉

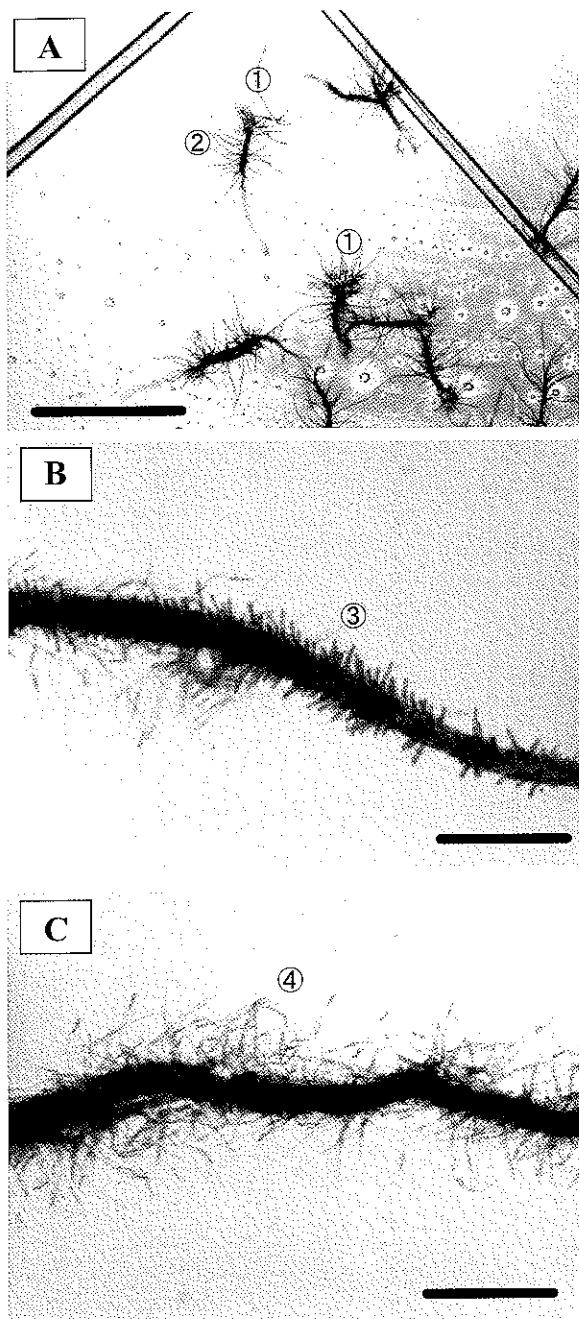


図6-2-3 冷蔵温度で保存されたスジアオノリの形態変化

A. 0 °Cの低温で保存された葉体 ①, 仮根; ②, 枝。水平の棒は 0.5 mm を示す。

B と C. 光量 $T 8 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 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 10.0 mm を示す。

2000年冬漁期は、11月2日に台風による増水により漁場の低塩分が長期間続いた。このため、試験養殖開始時の11月21日から11月末までは20 psu前後の塩分が続いた。しかし、12月に入ると急速に回復し28 psu前後となった。水温は、16 °Cから11 °Cまで変動はあるが順調に降下した。

保存終了後の出庫時の葉体を採取し、蛍光顕微鏡下で生存を示す葉緑体の赤色自家発光を確認した。1.7 mm

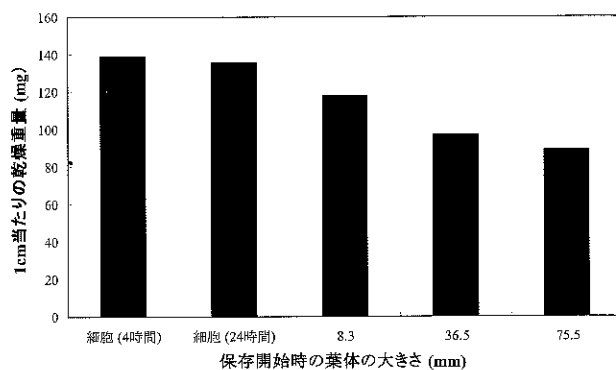


図6-2-4 低温保存の後、再培養した糸上のスジアオノリの乾燥重量(mg/cm)の比較。細胞 (4時間), 細胞 (24時間) は採苗後4時間, 24時間に生殖細胞の付着した糸を保存したものを示す。

サイズの種網では、観察された葉体の80~90%が、3.4 mmサイズの種網では葉体の60~90%で自家発光がみられた。しかし、15.5 mm以上のサイズでは、自家発光は非常に弱かった。養殖1ヶ月後の12月22日に各試験区の葉体を採取した結果、試験終了時の平均葉長、葉体本数、乾燥重量を表6-2-4に示した。1 cm当たりの葉体本数では1.7 mm, 3.4 mm 保存区及び人工採苗区が476

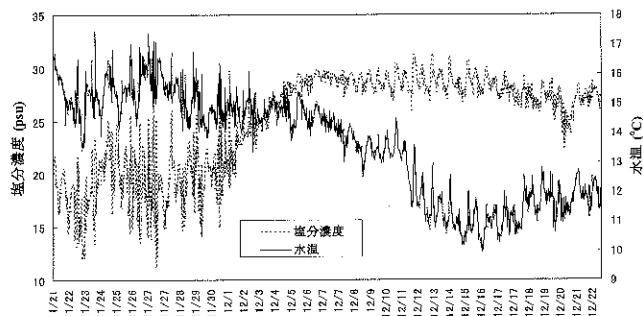


図6-2-5 吉野川の試験養殖漁場(図6-2-1)の20分ごとの水温と塩分の推移

~2272本であるのに対し、15.5 mmと64.0 mm区と対照区は35~72本の範囲にあり対照区と同じであるとみなすことができる。15.5 mmと64.0 mm 保存区では出庫時の蛍光顕微鏡による自家発光が非常に弱く、また肉眼による観察でも葉体が褐色に変化しており、既に出庫時に葉体は死亡していた。対照区は養殖場で生育している他の葉体から放出された生殖細胞が着生して発芽したものであり、15.5, 64.0mm 保存区が対照区と同じであることは、採苗された葉体ではないことがわかった。漁場における目視観察では、スジアオノリ葉体の成長が見られた試験区は入庫サイズが1.7 mm, 3.4 mm 試験区及び漁場へ張り込む前日に人工採苗した試験区の3網だけであった。

表6-2-4 養殖場における冷蔵網と通常採苗網上のスジアオノリの成長

養殖網の種類 葉体の長さ	冷蔵網 (mm)				通常採苗網* ¹	対象網* ²
	1.7	3.4	15.5	64.0	生殖細胞	
葉体の平均長 (mm)	334	275	41	48	124	54
S. D.	110	71	22	19	25	31
n	50	50	9	28	50	21
葉体の数 (個体数/cm)	476	2272	35	72	495	66
S. D.	40	130	16	7	108	11
乾燥重量 (mg/cm)	234	224		7	42	8

*¹ 2000年11月20日に人工採苗された養殖網であり、冷蔵保存はされていない。

*² 養殖場で自然に採苗された新しい養殖網。

4. 生殖細胞段階での冷蔵保存

表6-2-5に養殖試験終了時の葉体本数、平均葉長、乾燥重量を示した。また、図6-2-6に試験終了時の結合部付近を中心とした養殖網上のスジアオノリの生育状態を示した。平均葉長は対照区が43mmであるのに対し241mm、葉体本数は対照区が6本であるのに対し154本、乾燥重量は対照区が3mg/cmであるのに対し43mg/cmとなっており、生殖細胞着生段階での冷蔵保存による葉体であることが確認された。

考 察

スジアオノリの幼葉（葉長8mm）を保存するのに5～10℃の低温で光がない条件が保存後の生残が高く、正常な生育を示すことが明らかになった。-10℃での保存では、どの条件下でも全て死亡した。アマノリ類の

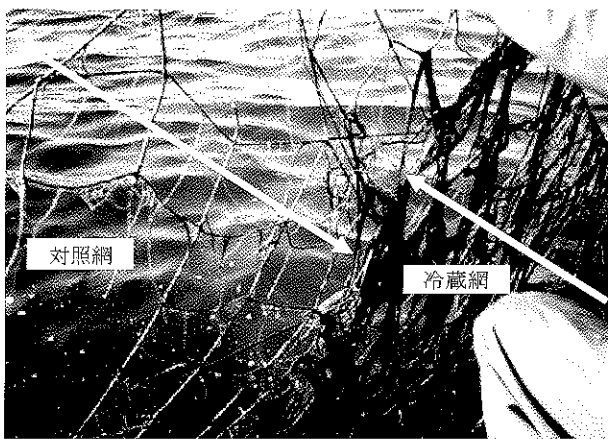


図6-2-6 冷蔵網(5℃低温保存)と対照網(何も付いていない新しい網)上のスジアオノリの成長の比較(2001年11月29日)

種網の低温保存の研究の中で、アマノリ種網に混生した2～3cmの葉長のアオノリが-3℃と-10℃の保存で15日間は生存したが、32日間では死亡したと報告されている(富山1967)。アマノリ類の種網に混生していたため、アオノリは湿潤状態で保存されていたと考えられた。今回の実験では2ヶ月未満の保存期間は設定しておらず、半月程度の短期間であれば-10℃の保存でも生存できた可能性は残されていると考えられる。0℃では、2ヶ月での保存では生存するが葉体は基部のみ生き残り分枝が成長する形態の成長を示したが、6ヶ月保存では死亡した。ボウアオノリ *E. intestinalis* では葉体の主枝を切断すると分枝が増加し、それが成長してゆくことが報告されている(Moss and Marsland 1976)。スジアオノリでも同様の現象が観察されており、分枝を成長させて収穫まで結びつけられるのであれば、この温度でも種網の保存に使えるであろう。5～10℃の温度であれば培地がない湿潤状態での保存と培地中での保存に生残率の差はないが、15℃以上になると湿潤状態では死亡個体が増加した。保存中に照明を付けた場合は4ヶ月保存以降に多数の分枝や仮根を形成する現象が多く見られた。アオサ属やアオノリ属などの同型世代交代をする海藻の種の保存には1～2cm程度の葉体を試験管(10ml)に入れ保存培養することが多い。スジアオノリでは、培地の交換をあまりおこなわないと、多数の分枝や仮根を形成する通常の状態とは異なった葉体となることが観察される。また、スジアオノリでは、葉体を擦り潰した濾過液を添加した培地で葉体を培養すると上述と同様な多数の分枝や仮根が形成される現象が観察される(團ら2003)。8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ という低い光量であるが光がある状態での葉体の保存では、保存中に葉体自身が生産

表6-2-5 生殖細胞段階で冷蔵入庫した冷蔵網の養殖漁場での成長

網の種類	葉体の平均長 (mm) \pm S.D.* ¹	葉体数 (個体数/cm) \pm S.D.* ²	乾燥重量 (mg/cm)
冷蔵網	241 \pm 93	154 \pm 14	43
対象網* ³	43 \pm 28	6 \pm 7	3

*¹ 2mm以上の葉体で長い順に50枚を測定したもの。

*² 1枚の養殖網のうち5箇所を測定した平均値。

*³ 何も付いていない新しい網を設置し、養殖場で自然に採苗され成長したもの。

する何らかの物質の影響により形態異常を起こすことが推測された。このため、保存には光がない状態で休眠させる必要があると考えられる。また、保存中の培養水の有無による再培養後の成長については差異がなく、今後の応用の面から考慮すれば培養水がない湿潤状態での保存が優れていると考えられた。

採苗後4時間、24時間の胞子着生直後の状態として保存する場合から75.5 mmの大きな葉体で保存する場合まで、保存開始サイズが再培養後の成長に与える影響を調査した。この結果、生殖細胞の状態での保存が最も再培養後の成長がよく、葉体が大きくなるにつれ成長が悪くなった。この実験では、培養期間は保存期間を挟み同じに合わせてあるが、連続した期間としては生殖細胞での保存の場合が最も長いためであったと考えられた。アオノリ属葉体では培養液に浸した光のない暗黒の状態でも、6ヶ月間、放出された遊走細胞は未発芽で休眠し、正常な天然光にもどすと正常に発芽、生長することが報告されている(新崎1953)。海藻類の生殖細胞が光のない状態でどれだけ生存できるのかがアナアオサ、ヒトエグサ、アサクサノリ、マクサ、カヤモノリ、アラメの遊走細胞で実験されている(大野・新崎1969)。この結果、低温にするほど、どの種も生残率は高く、生存能力は緑藻が褐藻、紅藻に比べて強く、この報告からも緑藻では、光がない低温での保存の可能性が高いと考えられた。このため、光がない状態で採苗直後からの保存では、スジアオノリ生殖細胞は休眠していると考えられ、種網保存を実用化する場合、育苗にかかる施設・労力を軽減するには採苗後直接保存するのがよいと考えられる。

2000年冬漁期の漁場環境の特徴は、台風による増水で漁場の低塩分が長期間続いたことであるが、試験養殖開始時の塩分は20 psu前後でありアオノリ類の成長にとって問題とはならないと判断された(Kim and Lee1996)。スジアオノリの成長に好適な水温は15℃付近にあると考えられ(Htun *et al.*1986, 平岡ら1999)、12月の中旬には11℃付近まで低下したため成長が低下した

と考えられた。育苗期での冷蔵保存後の野外養殖では、1.7 mm保存、3.4 mm保存、人工採苗区の平均葉長はそれぞれ333.5, 275.4, 124.3 mmと順に短くなり、乾燥重量はそれぞれ34.4, 224.7, 41.6 mg/cmと順に軽くなっている。乾燥重量は、室内実験の結果では、入庫時の葉長が長くなるほど乾燥重量は減少する傾向となっており、1.7 mmと3.4 mmの2例であるが長い葉体の保存は、保存法としては良くないことが明らかとなった。室内実験では36.5 mm, 75.5 mmの長い葉体で死亡個体はでたものの再培養後に成長がみられたが、野外養殖試験では15.5 mm, 64.0 mmサイズでは、既に出庫時に葉体はほとんど死亡していた。この違いは現在のところ不明であるが、入庫された葉体の育苗方法に原因があると考えられた。つまり、15.5 mm以上では水槽で育苗後、一旦野外養殖場で育苗されており、これを入庫する場合、取り上げ直後に冷蔵庫へ入庫できるわけではなく輸送にある程度時間がかかり、その間に葉体にストレスがかかると考えられる。また、野外では葉体表面や葉体間に有機物が溜まることが多い。これらが、保存中に腐敗することにより影響を与えたのではないかと推測された。人工採苗されたものとの差は、入庫までの育苗期間にあるといえる。種網保存の特徴は出庫後も入庫時の葉体そのまま成長するわけであるから、入庫まで費やした期間分、張り込み前日に人工採苗された網に比べ早く成長したと考えられた。

2001年に実施した採苗1日後の生殖細胞段階での冷蔵保存でも可能ということが野外養殖試験でも実証されたことは、スジアオノリの種網保存の効率化、省力化に大きく資するものと考えられた。いずれにしても、採苗後1日の生殖細胞から育苗された平均葉長1.7~3.4 mmまでの種網であれば、ビニール袋等に入れ密封することにより湿潤状態にして5℃の冷蔵温度で無光条件下において、1ヶ月程度の保存が可能であり、出庫後漁場へ展開すれば収穫することができることがわかった。

第3節 養殖管理技術の開発

1 種場での管理

吉野川のスジアオノリの天然採苗場である種場は河口から6~8 km上流にあり、河床の底質は砂質である。種場の立地条件は、支柱を打ち込める砂質の底質であり、多くの養殖網を張り込める場所である。また、採苗と同時に養殖期間中の交換用の網の育苗を兼ねながらストックしておく場でもある。この場所は支柱張り漁場であるため潮汐による干出の影響を受け、網の張り込み位置を調整することにより芽数の調整ができた種網を作ることができる。アマノリ類では育苗期には雑藻駆除、単孢子による増芽および耐水性や耐乾性の強い健全な芽を作るために干出操作が行われることが多い(三浦1992)。スジアオノリでも干出の影響を受けた種網は漁場へ張り込んでからの成長が速いと言われているが詳しく調べられたことがない。本項では、芽数を調整することによる成長への影響を調べるため、芽数と収量との関係について検討した。

材料及び方法

1998年11月16日から20日までの大潮時の4日間及び11月25日から30日までの小潮時の5日間、種場に新しいノリ養殖網を斜めに張り込み、干出を与えることにより芽数を違えた網を作成した。種場に網を張り込んでいた期間中、同じ場所の支柱に自記水位計(豊田工機株式会社製TD4000)を設置し10分間隔で水位を記録した。網は河床から20~150 cmの高さに張り込み、河床からの高さを違えた9カ所にラベル札を付け、それぞれの位置での干出時間を水位計のデータから算出した。種場で採苗後の網を養殖漁場に移し、11月20日から12月28日までの39日間及び11月30日から1月4日までの36日間試験養殖をおこなった。養殖試験最終日にそれぞれのラベル札付近の網糸を採取し、研究室に持ち帰り前節の「種網の冷蔵保存技術での育苗期葉体での冷蔵保存」で述べた同様の方法で1 cm当たりの芽数と乾燥重量を出した。

結果及び考察

アオノリ類の乾燥耐性に関する研究は、アマノリ類の雑藻駆除を目的として古くからおこなわれている。八柳・富山(1954)は、藻体長3.5~10 mmのスジアオノリは1日2回の6時間の干出で死滅すると報告している。また、アオノリ属で種は不明であるが3~4時間の干出が生育の限界であるとする報告が多い(加藤1953, 大津ら1959, 右田1959)。図6-3-1に1回の干出時間と1 cm当たりの乾燥重量との関係を示した。干出時間の増加とともに重量が減少し、吉野川でのスジアオノリ養殖での標準的な収量である1 cm当たり80 mgを下回る干出時間

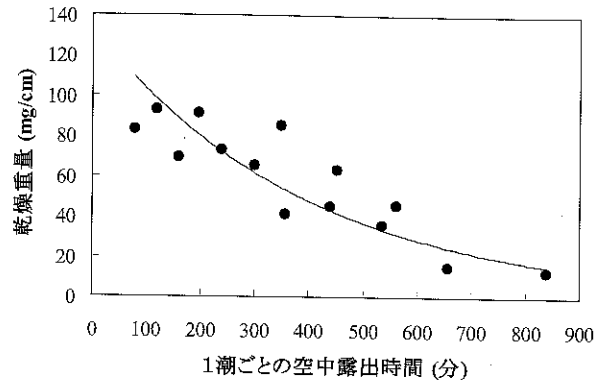


図6-3-1 1潮ごとの空中露出時間と網糸1cm上のスジアオノリの乾燥重量との関係

は180分(3時間)となった。アオノリ類の乾燥耐性は、アオノリを取りまく環境によって変わり、温度、相対湿度、光量、生育していた海水の塩分濃度の影響も受ける(Townsend and Lawson1972)。このため、過去の研究結果と単純な比較はおこなえないが本研究において着生したばかりの生殖細胞の生育に影響を及ぼし始める時間が3時間あたりと推測されることから、スジアオノリ藻体の乾燥耐性の上限は3~4時間ではなく、もう少し長いものではないかと考えられた。

図6-3-2に1 cm当たりの芽数と乾燥重量の関係を示した。これによると、1 cm当たり150本の芽数を越えると、乾燥重量は80~120 mgの範囲に一定してくる傾向が見られた。養殖アサクサノリの網糸上の群落において、吉田(1972)は「最終収量一定の法則」が成り立つと報告している。しかし、アマノリ類においては人工採苗の目安は、二次芽の増芽分も考慮して1 cm当たり50本程度が適当とされており、過剰な芽数は収量に影響を与えるといわれている。そして、養殖期間中に増芽分も入れて100~200本になれば、良好な摘採がおこなわれる(野田・岩田1983)とされている。アマノリ類との種の違いがあるのかもしれない。

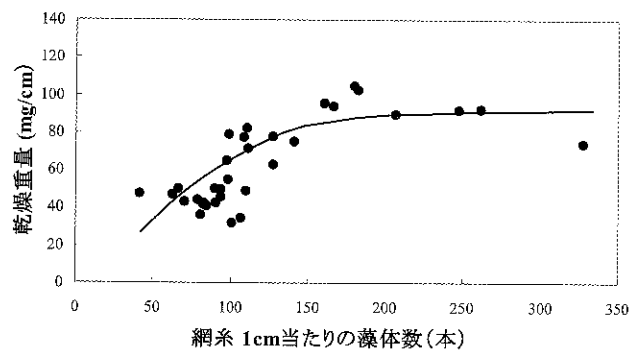


図6-3-2 網糸1cm上のスジアオノリの藻体数と乾燥重量との関係。養殖網の網糸1cm上では、乾燥重量で80から120 mgが最大の現存量であることを示している。図は、藻体数150本以上であれば、80から120 mgの最大の現存量を維持し続けることを示している。

れないが、スジアオノリにおいては、上記の実験の結果から、最大収量を上げる最適な芽数は1 cm当たり150本以上付ければよいことになる。さらに、スジアオノリは分枝をおこない成長するという特徴をもっており、分枝による増加分を考慮すると、もう少し少ない採苗数でも良いかもしれない。しかしながら、タンク採苗による人工採苗では、芽数の調整は非常にやりづらく、特に少なく付けることは難しい。藻体長の組成を見てみると芽数が増大しても2mm未満の小芽が増大するだけであり(第6章図6-1-11)、今回の結果からは芽数の増大は小芽が増加するだけであり収穫量に与える影響は少ないと考えられる。しかし、収穫量以外の要因として耐病性や細胞膜の厚さなどの藻体の健全度についての芽数の影響は検討されておらず今後の課題である。

2 養殖漁場での管理

吉野川での養殖網の平均的な水深は50 cmである。しかし、養殖水深は漁期によっても変化し、春漁期は浅く、冬漁期は深くなる。また、養殖業者間でもばらつきがあり、養殖期間中でも適水深帯をさがして調整している。このため、適正な養殖水深を検討するため、養殖水深を変えてスジアオノリの生育状況の調査を行った。

材料と方法

吉野川漁場における種場(第1章図1-1-1)に、1994年11月2日に新しい養殖網を5枚設置した。藻体長が数mm以上になった11月17日に養殖漁場に移した。採苗された養殖網は、表層、水深30 cm, 50 cm, 60 cm, 90 cmに張り込まれ、調査は11月17日から行い、12月27日まで網糸ごと藻体を採取した。採取した藻体は、実体顕微鏡で形態、成熟状況、芽数を調べ、最長の藻体から上位20本の藻体を測定した。

結果及び考察

表層では、張り込み5日後(11月22日)までは平均藻

体長26 mmと良好な成長を示したが(表6-3-1)、その後藻体先端部の成熟による流出が続き、芽数も減少し、調査終了まで成長は見られなかった。30cm以深の水深層では、多少成長に差はあっても先端部が成熟しつつ成長し、張り込み15日後(12月2日)の50 cm層では平均藻体長264 mmであった。20日後(12月7日)の30, 60, 90 cm層では359~432 mmまで成長した。日間成長率は最大29.2%を示した。12月2日と7日に表層を除く全層で収穫されたが、1網当たり1.5 kg(乾燥重量)で色調も濃緑であり高品質のスジアオノリであった。これらの養殖網のスジアオノリは12月2日頃には汚れが目立ち、付着生物が見られたが、それにもかかわらず成長が良好であった。90 cm層の養殖網では先端部成熟も他の層に比べ少なく、汚れも少ない養殖網であった。収穫後の養殖網の藻体は、どの層においても刈り取り後の成長は悪く、平均藻体長200 mm以上に成長せず、2回目の収穫は不可能な状態であった。また、刈り取り後は藻体幅の増大が顕著に現れた。

今回の調査の結果、水面直下である表層(0 cm)では藻体が成長するにつれ先端部の白化を繰り返し流失した。スジアオノリの生育は環境の急激な変動により阻害されると思われ、水面直下では気温の変動の影響を受けやすく、淡水の影響も受けやすい。水温、塩分以外に波浪などによる物理的影響も受けやすく、藻体が傷むことにより成熟流出が起これると考えられる。しかし、少なくとも水面下30 cm以深ではこれらの影響が緩和され、生育する。また、水深が増すことにより成長の制限要因となりうる光量に関しても水面下90 cmでは他の層と変わらない成長を示している。Ohno and Miyanooue (1980) は、高知県四万十川と新莊川の調査でスジアオノリが良好に繁茂するには、濁度が4 ppm以下であることと報告している。湯浅ら(1995)は、1995年9月から1996年5月まで吉野川河口での水深別の濁度を測定しているが、9月の増水時を除き表層から1 m層までは概ね5 ppmに保たれていたと報告している。このことから、本漁場では成長が悪くなる生育水深は90 cm以深であることが分かった。

表6-3-1 養殖スジアオノリの平均藻体長と日間成長率

水深 (m)	0		30		50		60		90		
	月 日	F.L. ¹⁾	D.G.R. ²⁾	F.L.	D.G.R.	F.L.	D.G.R.	F.L.	D.G.R.	F.L.	D.G.R.
1 1	22	26+6		39+8		49+11		48+7			
	27			139+24	29.0	86+17	11.9	118+23	19.7	136+34	
1 2	2	14+3		192+31	6.7	³⁾ 264+92	25.1	277+40	18.6	120+23	-2.5
	7			³⁾ 385+83	14.9	135+46	-12.6	³⁾ 359+70	5.3	³⁾ 432+154	29.2
	12	14+5		128+11	-19.8	78+15	-10.4				
	17	16+4	2.7	194+59	23.1	84+19	1.5			12+65	
	22			167+45	-3.0	118+61	7.0				
	27			56+19	-19.6	37+11	-20.7	76+15		33+8	

¹⁾ F.L. = 藻体長 (mm), 平均値 + SD.

²⁾ D.G.R. = 日間成長率 (%) = $[(L_t / L_0)^{1/d} - 1] \times 100$

³⁾ 収穫