

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

誌名	徳島県立農林水産総合技術支援センター水産研究所研究報告 = Bulletin of Tokushima Prefectural Agriculture, Forestry and Fisheries Technology Support Center Fisheries Research Institute
ISSN	13472763
著者名	團,昭紀
発行元	徳島県立農林水産総合技術支援センター水産研究所
巻/号	6号
巻号補足	
掲載ページ	p. 1-78
発行年月	2008年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



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はないかと思う。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、成熟成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、藻体の栄養細胞を仮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仮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な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。愛媛県の燧灘西部では、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わか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で、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。

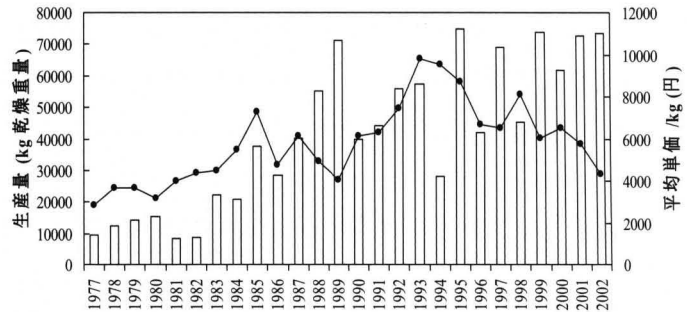


図1-2 1977年から2001年までの徳島県におけるスジアオノリの生産量(□)と平均単価(●)の推移

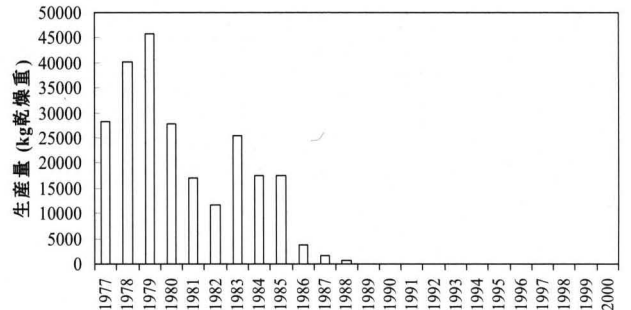


図1-3 1977年から2000年までの徳島県におけるヒトエグサの生産量の推移

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ある。すなわち図1-4にあるように、スジアオノリ、ヒトエ

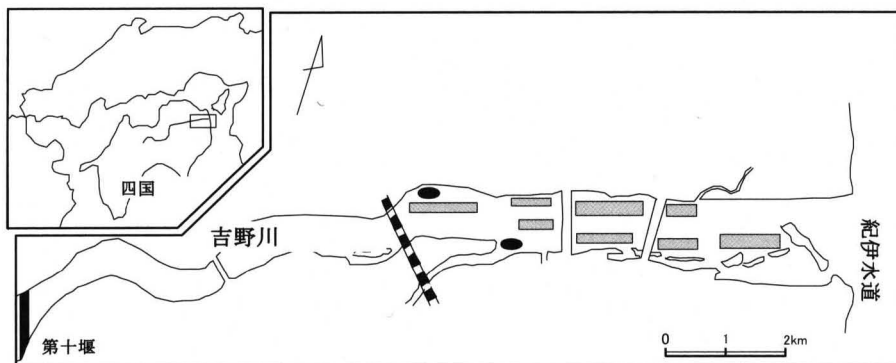


図1-1 徳島県吉野川河口域でのスジアオノリの天然採苗場と養殖場。■, 養殖場; ●, 採苗場

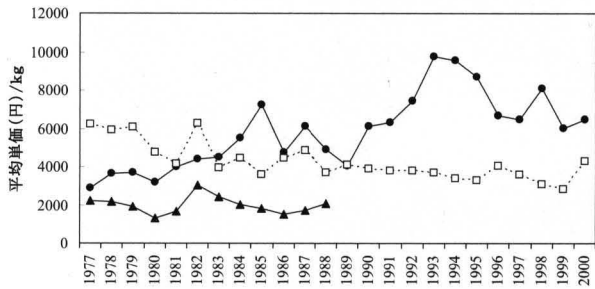


図 1-4 1977年から2000年の徳島県におけるスジアオノリ(●), ヒトエグサ(▲), アマノリ(□)の平均単価の推移

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

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自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、これを網に付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付着し、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

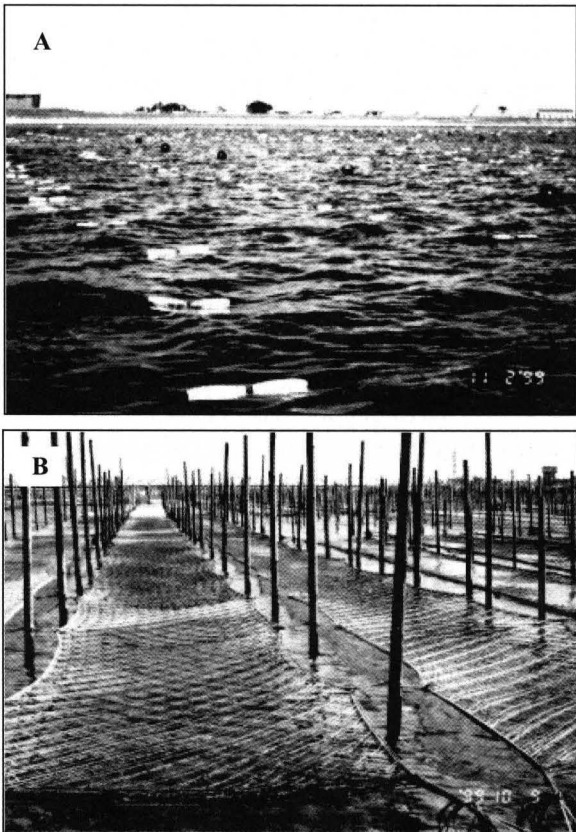


図 1-5 スジアオノリの2種類の養殖方法 A, 浮き流し式養殖方法 B, 杭式養殖方法

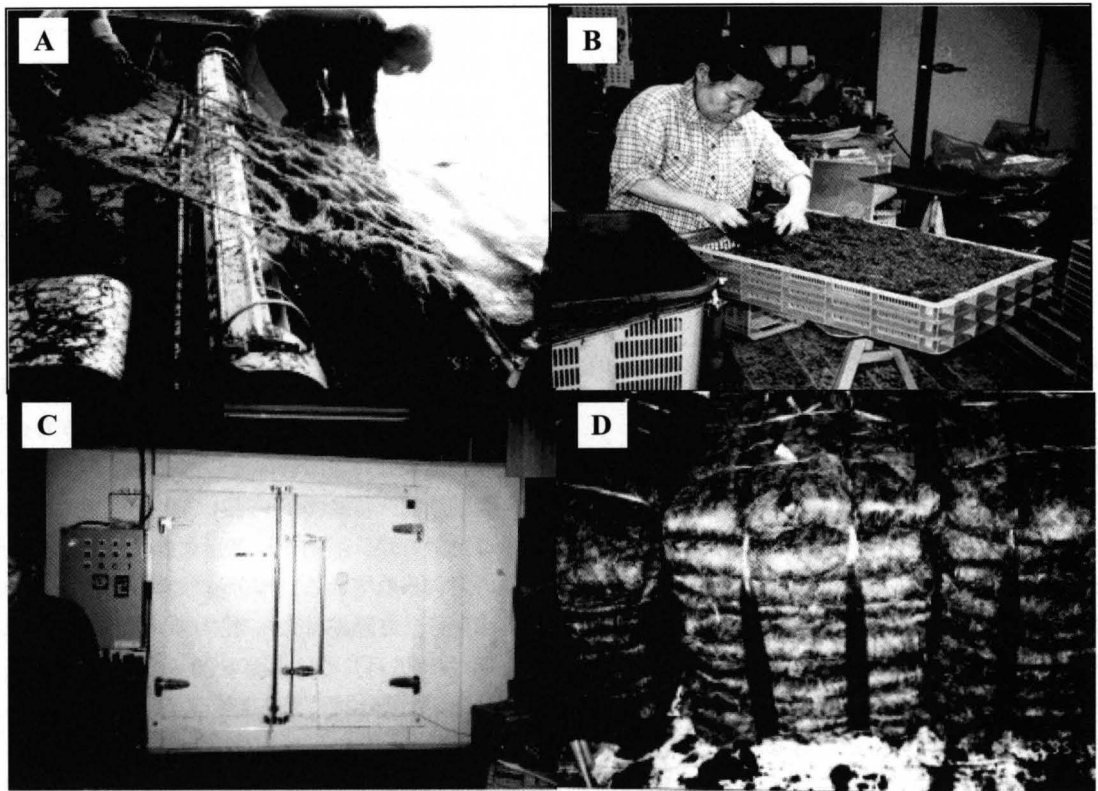


図 1-6 スジアオノリの生産 A、浮き流し式養殖方法における収穫風景 B、ほぐし作業 C、冷風乾燥機 D、スジアオノリの製品

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、その後順調に低下し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

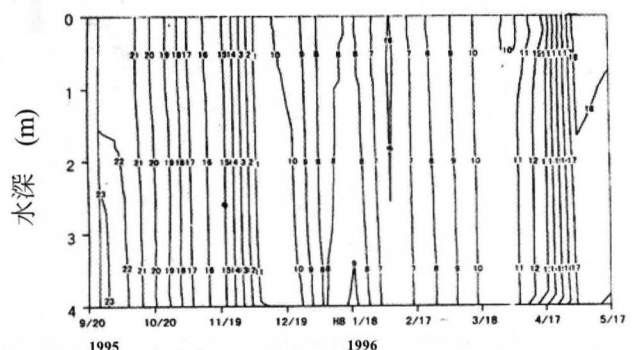


図 1-7 1995年9月から1996年6月までの、吉野川における水深別の水温の推移

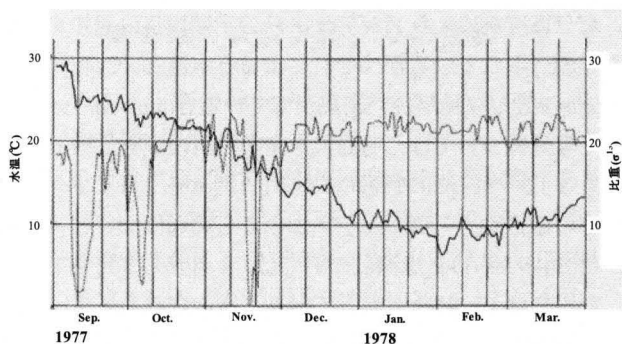


図1-8 1977年9月から1978年3月までの、吉野川河口における水温(—)と比重(⋯)の推移

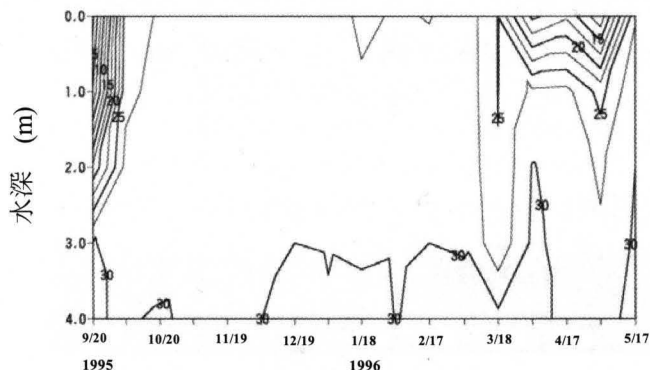


図1-9 1995年9月から1996年5月までの、吉野川河口域における水深別の塩分の推移

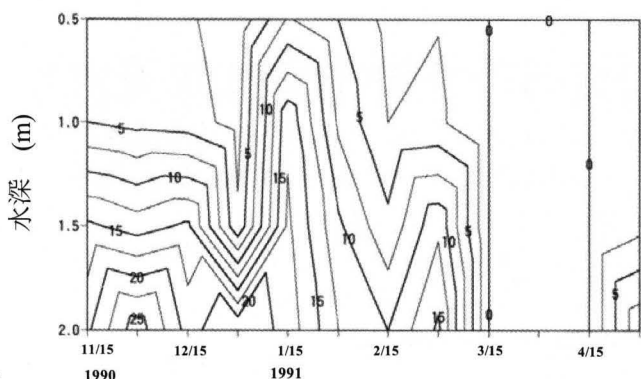


図1-10 1990年11月から1991年4月までの、四万十川河口域における水深別の塩分の推移

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

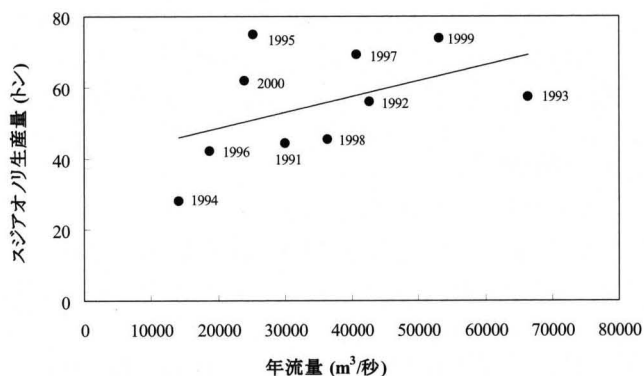


図1-11 吉野川中央橋(河口から40.2 km地点)での流量と徳島県におけるスジアオノリの年間生産量との関係。年流量は4月から9月までの平均日流量の積算値を示している。

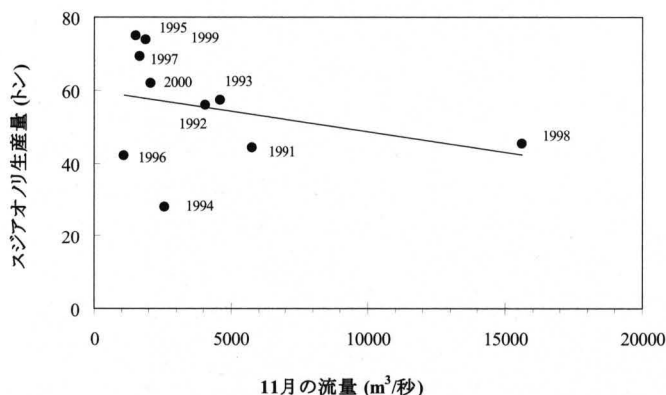


図 1-12 吉野川中央橋（河口から 40.2 km 地点）での 11 月の流量と徳島県におけるスジアオノリの年間生産量との関係。11 月の流量は月の平均日流量の積算値を示している。

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 Miyanou (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 14 km 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 8 km 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 4～5 km 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、実際は 10～12 月の冬漁期と 4～5 月の春漁期とに分かれ、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温 16～17℃、塩分 24～28 psu あたりが最も伸びがよいとされている。室内培養により、水温、

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、それによると水温 20℃、塩分 24.5 psu 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 12～28 psu の範囲にあり、1 月から 3 月までの漁閉期の塩分（25～28 psu）についても問題はないと言える（北角ら 1991）。水温については、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温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いとか、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 Miyanoue 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

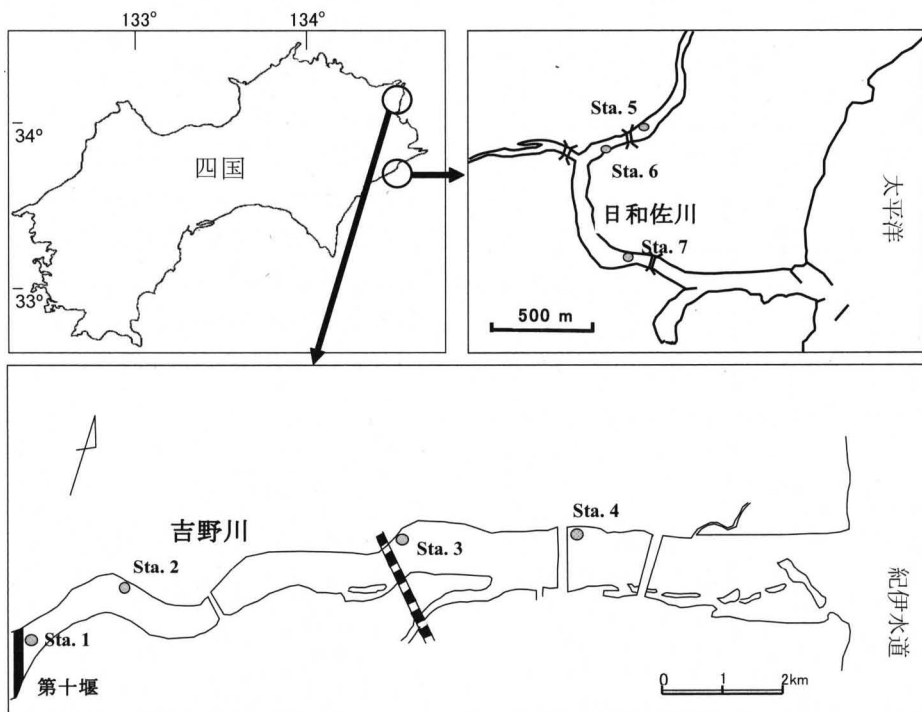


図2-1 吉野川の調査地点は、図に示した Station 1 から 4 までの 4 地点、日和佐川の調査地点は Station 5 から 7 までの 3 地点

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

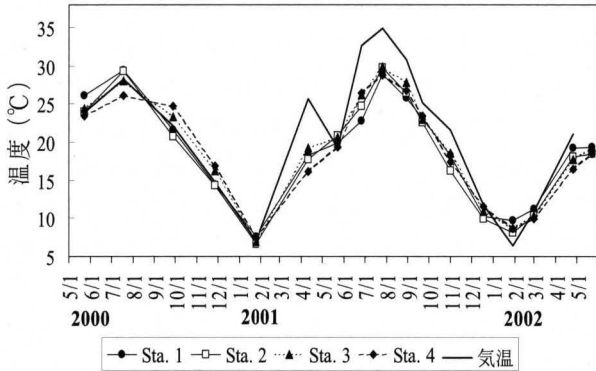


図 2-2 2000 年 5 月から 2002 年 5 月までの吉野川の各調査地点での水温及び気温の季節推移

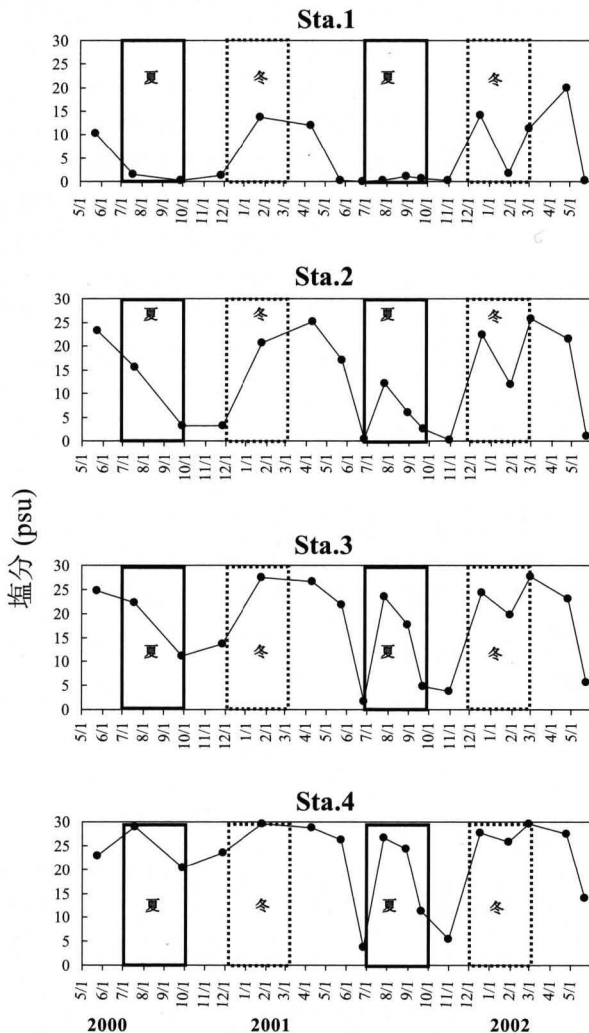


図 2-3 2000 年 5 月から 2002 年 5 月までの吉野川の各調査地点での塩分の季節推移

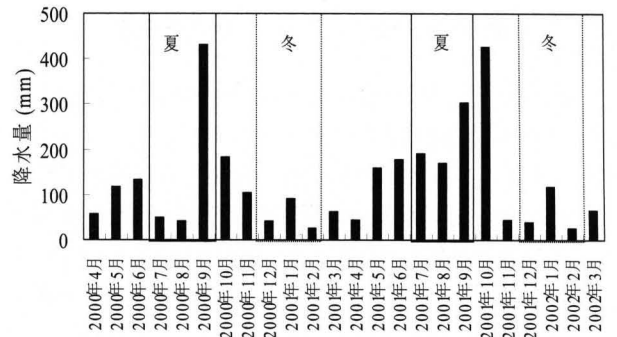


図 2-4 2000 年 4 月から 2002 年 5 月までの徳島市 (吉野川河口域) での降水量 (徳島地方気象台の観測値) の季節推移

間で最低水温となり 4 月になると 15℃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℃(気温 6.9℃), 2002 年が 8.6～9.7℃(気温 6.4℃)であり、7 月の水温は 2000 年が 26.1～29.4℃(気温 28.3℃), 2001 年が 28.8～29.9℃(気温 34.9℃)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℃) となり、8～9 月に最高水温 (25～29℃) 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

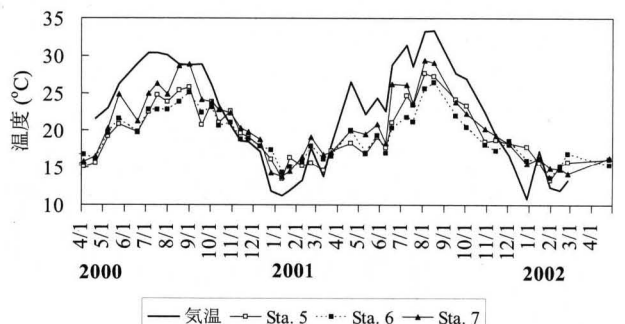


図 2-5 2000 年 4 月から 2002 年 4 月までの日和佐川の各調査地点での水温及び気温の季節推移

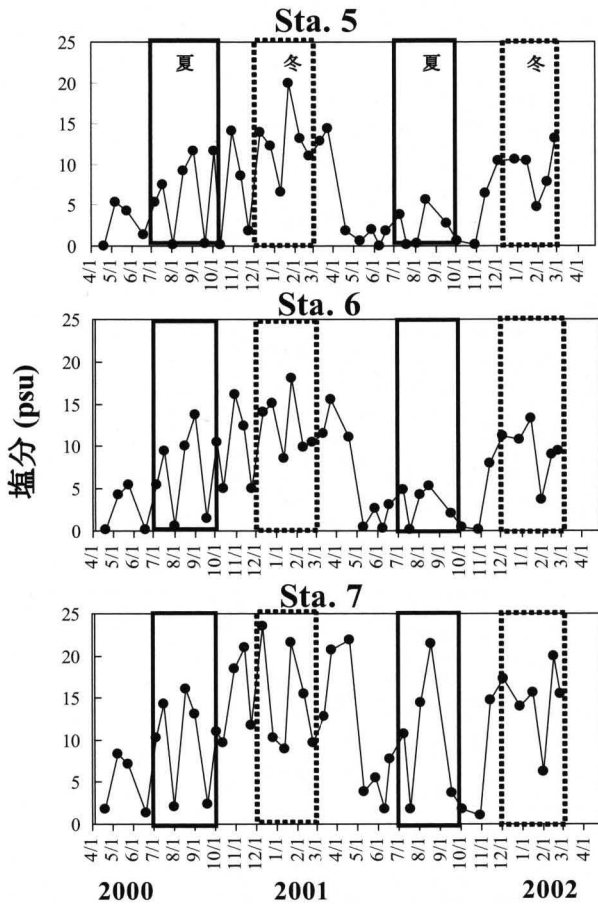


図 2-6 2000年4月から2002年4月までの日和佐川の各調査地点での塩分の季節推移

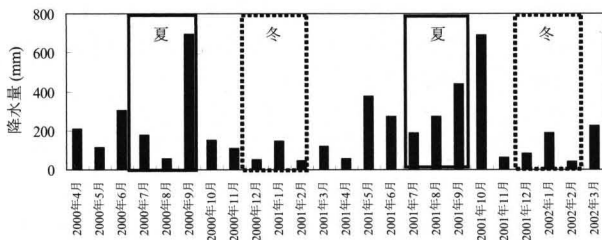


図 2-7 2000年4月から2002年3月までの日和佐町での降水量（徳島地方気象台の観測値）の季節推移

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。

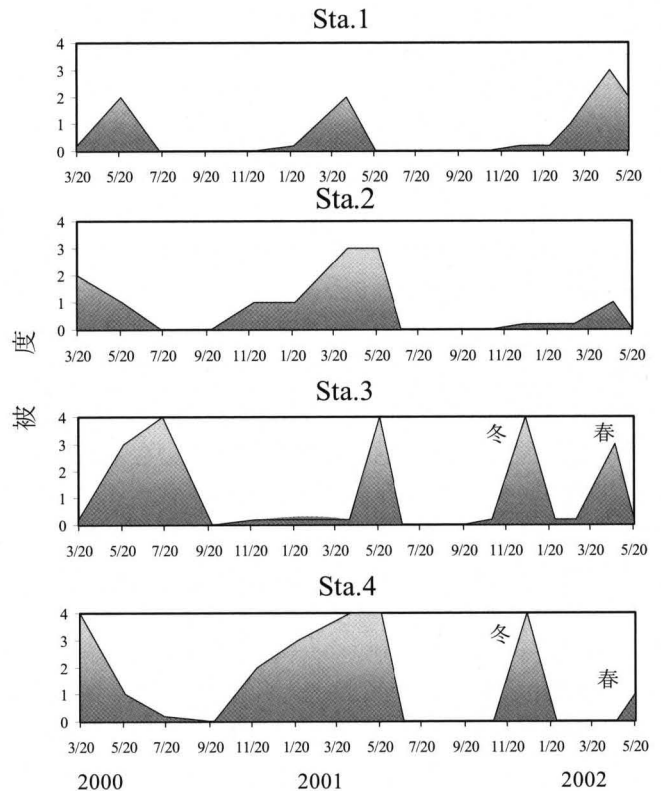


図2-8 2000年3月から2002年5月までの吉野川の各調査地点での0.5m 方形枠内のスジアオノリの被度の季節推移

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

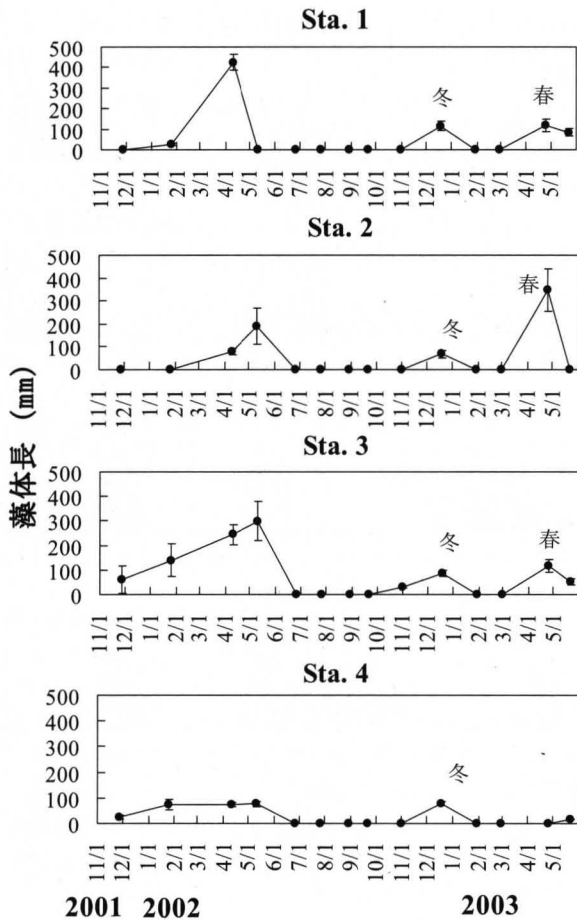


図 2-9 2001 年 11 月から 2003 年 5 月までの吉野川の各調査地点でのスジアオノリの藻体長の季節推移（垂直バーは標準偏差を示す）

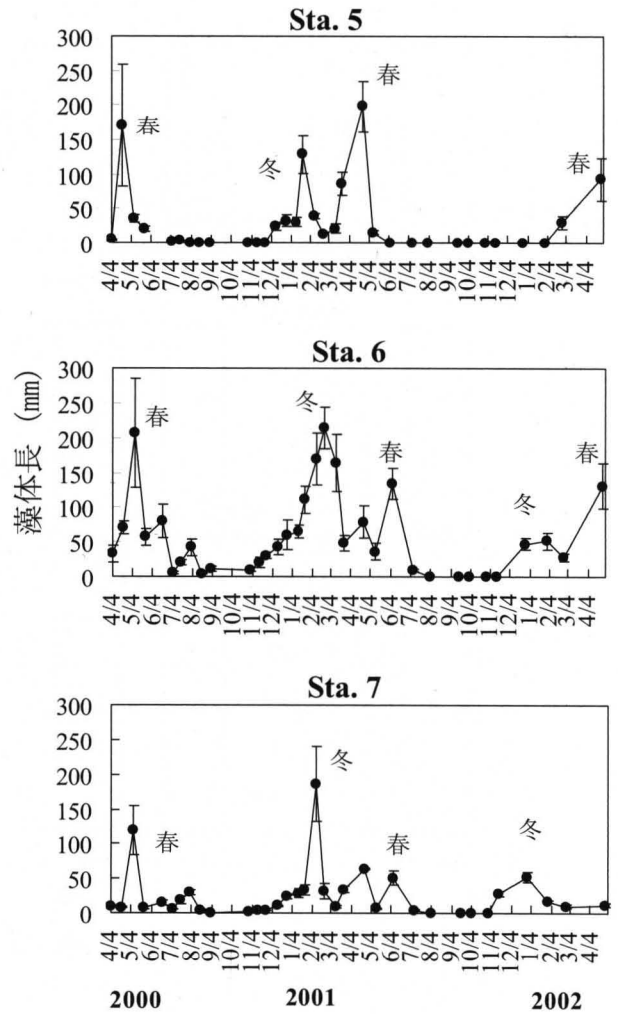


図 2-11 2000 年 4 月から 2002 年 4 月までの日和佐川の各調査地点でのスジアオノリの藻体長の季節推移（垂直バーは標準偏差を示す）

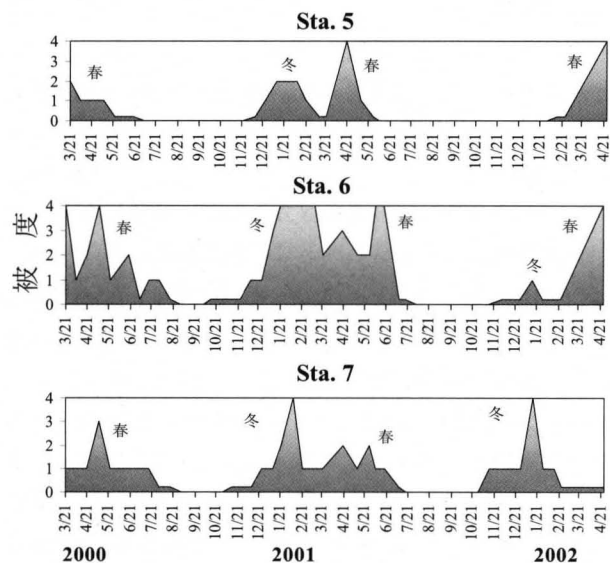


図 2-10 2000 年 3 月から 2002 年 4 月までの日和佐川の各調査地点での 0.5m 方形枠内のスジアオノリの被度の季節推移

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

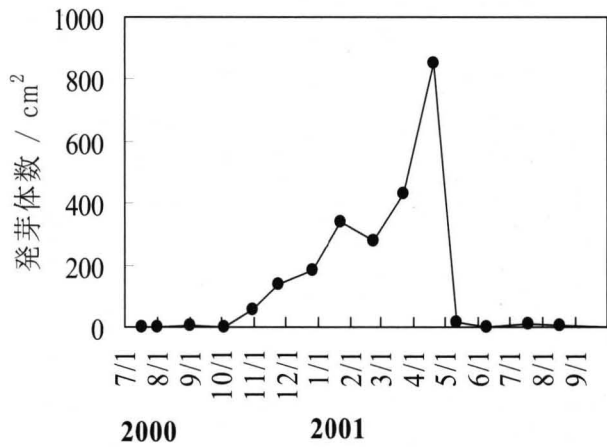


図 2-12 2000年7月から2001年9月までの日和佐川の Station 5での糸上のスジアオノリの発芽体数の季節推移。糸上の発芽体数

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)、高知県新荘川(Ohono and Miyanooue 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だろう。

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を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っており、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、真夏の間に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℃、30～50μmol 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

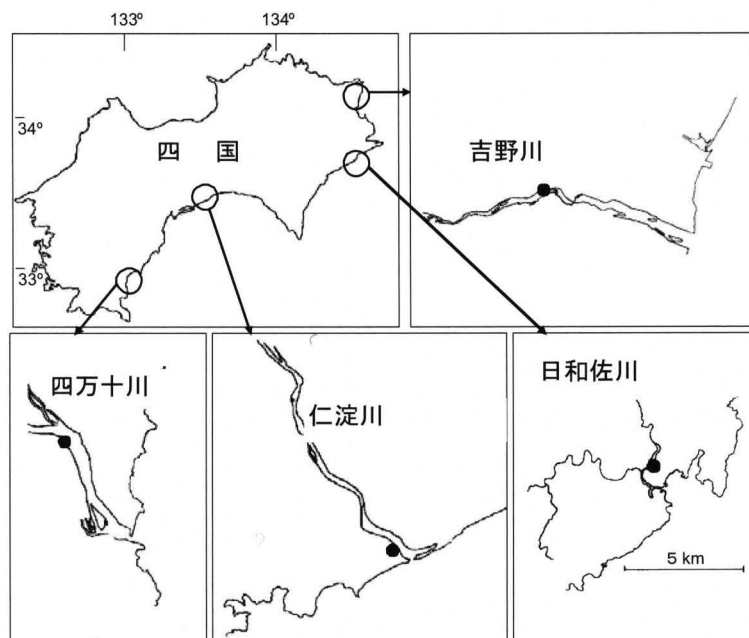


図2-13 四国内4カ所のスジアオノリ採取地点である吉野川、日和佐川、仁淀川、および四万十川を示す

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)
E8	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)

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℃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 週間の間に、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℃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

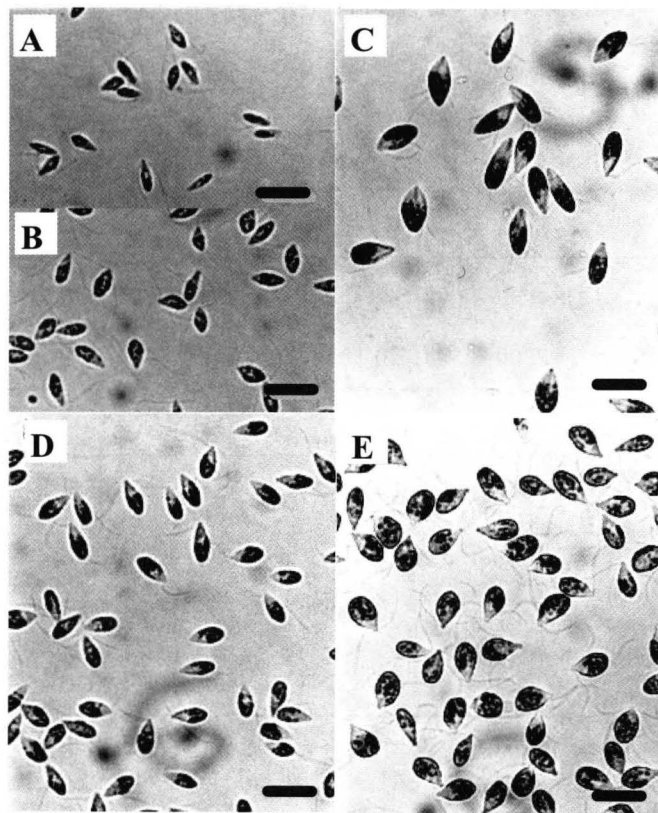


図 2-14 無性または有性生殖の生活史を持つスジアオノリの遊走細胞 A, 雄の配偶子; B, 雌の配偶子; C, 遊走子; D 2 本鞭毛を持つ無性の遊走細胞; E, 4 本鞭毛を持つ無性の遊走細胞 Scale bar=10 μm

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	5	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。

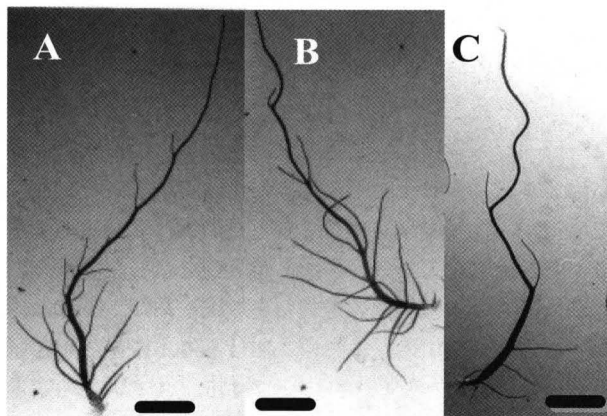


図 2-15 異なる生活史を持つスジアオノリの培養 2 週間後の発芽体 A, 日和佐川の藻体からの接合子を培養した藻体 (胞子体); B, 日和佐川の藻体からの 2 本鞭毛遊走細胞を培養した藻体 (無性); C, 仁淀川の藻体からの 4 本鞭毛遊走細胞を培養した藻体 (無性) Scale bar=1 mm

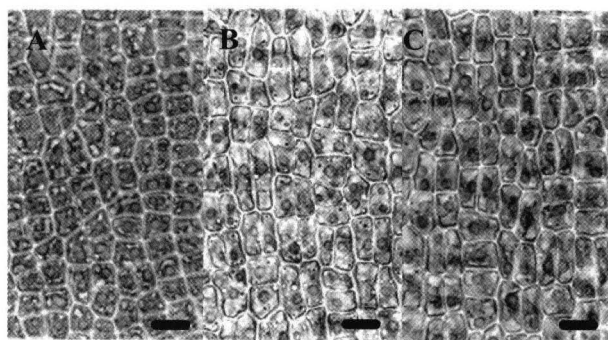


図 2-16 5-10 cmの長さの培養されたスジアオノリ藻体の中央部から先端部にかけての栄養細胞の表面 A, 日和佐川の孢子体; B, 吉野川の2本鞭毛遊走細胞を再生産する無性の藻体; C, 仁淀川の4本鞭毛遊走細胞を再生産する無性の藻体 Scale bar=10 μ m

頭微分光測光

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値を同じカバーガ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)。胞子体及び配偶体、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で同様の報告が韓国(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)。Kapaun(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に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孢子体から派

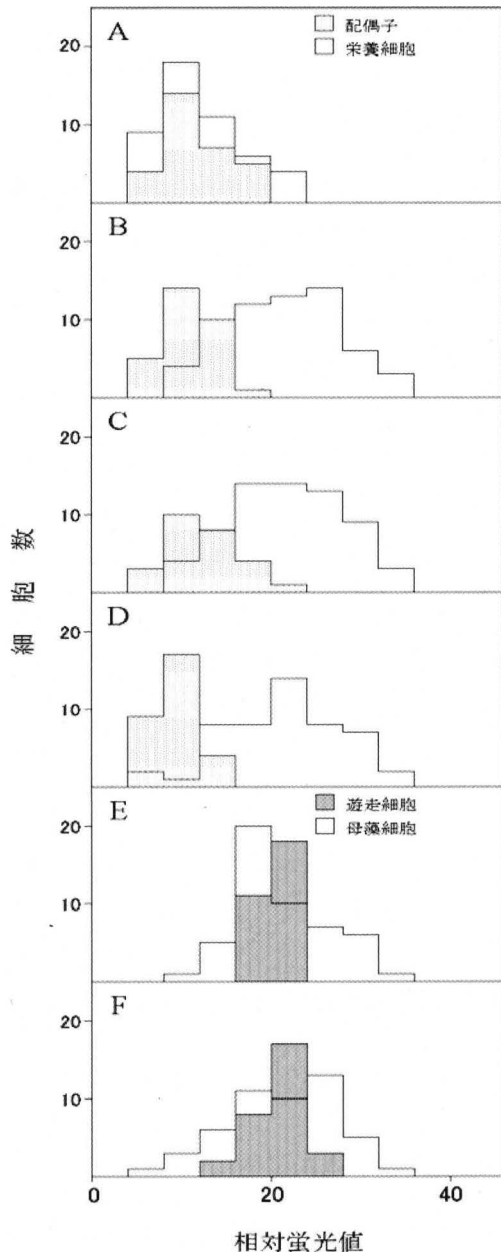


図 2-17 顕微測光により、対象サンプルとして四万十川の配偶子の核の相対蛍光値とAからDのそれぞれの種類の葉の栄養細胞の核の相対蛍光値、また、E、Fの無性の遊走細胞とその母藻の核の相対蛍光値のヒストグラムを示した。A、配偶子/ 四万十川の配偶体; B、配偶子/ 四万十川の孢子体; C、配偶子/ 吉野川の2本鞭毛遊走細胞を作る無性の藻体; D、配偶子/ 仁淀川の4本鞭毛遊走細胞を作る無性の藻体; E、2本鞭毛の無性の遊走細胞/ 日和佐川のその母藻; F、4本鞭毛の無性の遊走細胞/ 吉野川のその母藻

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)	
胞子体	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

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。

第3章 成熟と仮根形成に及ぼす環境要因の影響

スジアオノリ藻体の先端部の栄養細胞は、生殖細胞へ直接分化することが、よく観察される。野外においては、アオノリ類の遊走細胞の放出は月齢に関係していると言われている。また、干出による物理刺激だけでなく、水温、光量、塩分も影響する (Christie and Evans 1962; Pandey and Ohno 1985)。室内実験においては、スジアオノリ藻体から直径 0.9 mm 程度の円形に切り取った小さな藻体片 (ディスク) の栄養細胞は 2~3 日で生殖細胞を形成し、放出することが報告されている (團ら 1997)。生殖細胞が放出された後の空の細胞は白く見えるため、栄養細胞および未放出の生殖細胞と容易に区別できる (図 3-1)。本章では、藻体を人為的に成熟誘導しスジアオノリの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、

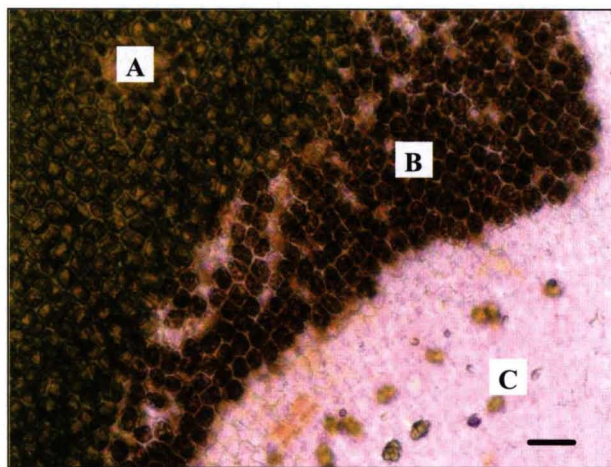


図3-1 成熟誘導後のスジアオノリのディスクの組織細胞。栄養細胞、成熟細胞、遊走細胞放出後の細胞の境界は色調により明瞭に識別できる。A、緑色の栄養細胞; B、生殖細胞を形成している茶色の細胞; C、遊走細胞を放出した白色の空の細胞。横棒は 20 μm 。

光量についての最適条件を明らかにした。

アオノリの藻体を小さく切断すると基部方向の藻体片に仮根が形成されることが報告されている (Lersten and Voth 1960; Eaton *et al.* 1966; Moss and Marsland 1976; Reed and Russell 1979; Lee and Wichroski 1996; 團ら 1998)。本章では、成熟特性のほかに仮根形成をおこなうための温度、塩分、光量についての最適条件を明らかにし、切断藻体片の組織培養によるスジアオノリの種苗作成の可能性を検討した。

材料および方法

1. 細断片のサイズ・温度

材料： 実験に用いたスジアオノリ藻体は、1997年12月に徳島県吉野川河口から2~4 kmの地点に自生していた

ものを採取し、15 $^{\circ}\text{C}$ の恒温室で塩分濃度 20 psu (滅菌海水に蒸留水を加え調整) の PES 培地中で実験開始まで保存したものである。藻体保存のための光量は調光装置付き白色蛍光灯下で 20 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期条件) に調整した。

藻体の細断ディスク・サイズと成熟との関係： 実験は、採取後2日間保存 (短期保存処理：藻体長 25 cm, 30 cm, 藻体幅 3~4 mm) と5週間保存 (長期保存処理：藻体長 90 cm, 藻体幅 3~4 mm) した藻体について行われた。短期処理の試料は、直径 0.9, 2.1 および 3.0 mm のディスクを作成した。それぞれのサイズのディスクを 48 枚ずつ細断したが、藻体の先端よりサイズを違えて交互に皮細工用パンチを用い細断し、藻体の部位による成熟の影響を少なくした。長期処理の試料は、直径 0.9, 2.1, 3.0, 3.6, 4.5 および 9.0 mm (但し直径 4 mm 以上のディスクは円形にならず筒状になった) の 6 種類ディスクを 24 枚ずつ細断した。

これらのディスクを塩分濃度 20 psu の海水でよく洗浄し、組織培養用マイクロプレート (48 穴, イワキ株式会社) の各ウエルに 1 枚ずつ入れて培養した。短期保存処理の試料は 6 日間, 長期保存処理の試料は 7 日間培養し観察を行ったが、培養条件は 20 $^{\circ}\text{C}$ の恒温室で、塩分濃度 20 psu の PES 培養液に入れて、光量は 19 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期・12時間暗期条件) とした。毎日定時に顕微鏡による観察を行ったが、細断したディスク細胞の 50% 以上が遊走細胞になったものを、「成熟」と表示した。また、細断したディスク細胞の 50% 以上が遊走細胞の放出が終わった細胞で白い細胞壁だけになったものを「遊走細胞放出」と表示した。同時に仮根を持つディスクの測定を 2 日後あるいは 5 日後に行った。ディスクの成長量を知るために長径の長さを測定した。

培養温度と藻体ディスクの成熟との関係： 長期保存処理した藻体 (藻体長 90 cm, 藻体幅 3~4 mm) から直径 0.9 mm のディスクを 144 枚作成し、塩分濃度 20 psu の海水でよく洗浄した。培養温度については、ディスクの入ったマイクロプレートを温度勾配恒温器 (TG 200-AD, 株式会社日本医化機械製作所) に静置し、5, 10, 15, 20, 25 および 30 $^{\circ}\text{C}$ の 6 実験区を設定した。顕微鏡観察、仮根出現数、ディスクの長径測定の方法と培養水の塩分濃度、光量の条件は前項の実験に同様とした。培養期間は 7 日間とした。

2. 塩分濃度・光量

材料： 実験に用いたスジアオノリ藻体は、1999年11月に徳島県吉野川河口から 5 km 上流の汽水域に自生していたものを採取し、塩分濃度 20 psu の PES 培地 1 l の入ったビーカーに入れ、実験開始まで保存したものである。藻体保存のための光量は調光装置付き白色蛍光灯で 40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期条件) に調整した。

塩分濃度と藻体ディスクの成熟との関係： 遊走細胞形成のための最適な塩分条件を調査するために、海水を60℃以下で加熱または蒸留水で希釈し、様々な塩分濃度の海水を準備した。作成された海水の塩分濃度はサリノメーター(T.S. Digital lab. 鶴見精機株式会社)で測定され、その値は0, 1.6, 3.3, 5.0, 6.6, 13.2, 19.9, 26.3, 32.1, 39.4, 45.3, 52.0, 59.4, 66.3 psuであった。生殖細胞形成及び放出の程度を確認するために保存藻体(藻体長150 cm, 藻体幅3~4 mm)から皮細工用パンチを用い直径1.2 mmのディスクを切り出した。全部で336枚のディスクが使われた。ディスクを塩分濃度3.3 psuの滅菌海水で洗浄し、組織培養用マイクロプレート(48穴, イワキ株式会社)に移した。ディスクは、様々な塩分濃度の海水の満たされたウェルに1枚ずつ入れられ、20℃の恒温室内で調光装置付き白色蛍光灯下で40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期条件)で5日間培養された。毎日、午前9:00~10:00に顕微鏡により観察をおこなった。遊走細胞を形成した藻体の成熟部分は黄色から茶色になるので認識できた。50%以上の成熟部分を持つディスクを「成熟」と定義した。また、遊走細胞の放出は空になった白色の細胞により容易に認識できた。遊走細胞を放出した部分を50%以上持つディスクを「遊走細胞放出」と定義した。成熟及び遊走細胞の放出の割合が、それぞれの試験区ごとに決定された。また、仮根を形成したディスクの数を細断3日後に計数した。

光量と藻体ディスクの成熟との関係： 生殖細胞形成のための最適な光量条件を調査するために、直径1.2 mmのディスク240枚が保存藻体(藻体長120 cm, 藻体幅4 mm)から切り出された。ディスクを塩分濃度20 psuの滅菌海水で洗浄し、1ウェルに20 psuの滅菌海水0.6 mlが満たされた48穴組織培養用マイクロプレートに移した。これらマイクロプレートは20℃, 光量0, 4, 8, 16, 24, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期条件)で5日間置かれた。光源は40 Wの白色蛍光灯(日立株式会社)2本と27 Wの白色蛍光灯(三菱株式会社)4本を上方にセットした。光量の調節は、光源からのマイクロプレートの距離を変えることと、薄い黒色のメッシュ布をフィルターとして用いることによりおこなった。光量は光量子計(ライカLI-250)で測定した。成熟、遊走細胞放出、仮根形成の観察は上記と同様の方法でおこなった。

3. 藻体の基部から先端部までの遊走細胞放出の割合

2001年11月に吉野川の河口から6 km上流で採取したスジアオノリ天然藻体(藻体長1670 mm, 幅4~5 mm)を、先端から20 cmごとに皮細工用のパンチを用い直径0.9 mmのディスクを30枚ずつ切り出した。ディスクを20 psuの海水で充分洗浄したのち、20 psuの海水50 mlが満たされた滅菌プラスチックペトリ皿(直径90 mm, 高さ

20 mm)に入れ、切り出した場所ごとに最先端を1番とし基部に向かい9番まで番号を割り当てた。ディスクは、20℃, 光量40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (12時間明期, 12時間暗期条件)で3日間培養した。ディスクを正立顕微鏡(Nikon OPTIPHOT, 株式会社ニコン, 東京)に装着したデジタルカメラ(COOLPIX990, 株式会社ニコン)で1枚ずつ撮影し、画像解析ソフト(Win Roof 3.5, MITANI CORPORATION)で未成熟部分及び生殖細胞の未放出部分がディスク全体に占める面積の割合を測定し、次式により遊走細胞放出部分の面積の割合を求めた。

$$\text{遊走細胞放出の面積(\%)} = 100\% - \% \text{ディスクにおける緑色と茶色の面積}$$

結 果

1. 細断片のサイズ・温度

藻体の細断ディスク・サイズと成熟との関係： 短期保存処理藻体について、細断後経過日数に伴う「成熟」ディスク割合の推移を図3-2に示した。直径0.9 mmディスクでは経過日数につれて「成熟」ディスクの割合が高くなり、6日後には100%になった。2.1と3.0 mmディスクでは実験期間中10%以下の低い値で推移していった。これらのディスクは実験期間を通じ一部が成熟しただけであった。また、2.1 mmディスクでは6日後においても10%のディスク

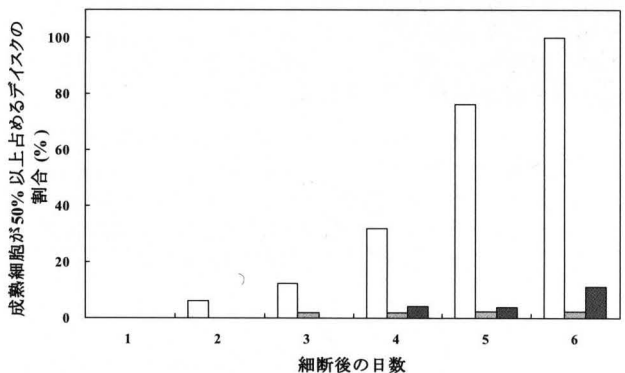


図3-2 細断後の日数と成熟との関係を示した。ディスクは採取後2日の藻体から切り出され、6日間培養された。成熟細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。

ディスクの直径: □, 0.9 mm; ▒, 2.1 mm; ■, 3.0 mm

表3-1 異なるディスクの大きさにおける相対成長割合と仮根形成割合

ディスクの大きさ(直径)	0.9mm	2.1mm	3.0mm
相対成長割合(%) ¹⁾	107	166	121
相対仮根形成割合(%) ²⁾	27	96	76

1)相対成長割合(%)=5日後の平均直径値/初期直径値×100

2)相対仮根形成割合=5日後の仮根保有ディスク数/48×100

が未成熟であった。2.1と3.0 mm ディスクは0.9 mm ディスクに比べて成長に向かい、仮根を持つ割合も高くなった(表3-1)。

長期保存処理藻体について、細断後の経過日数に伴う「成熟」ディスク割合の推移を図3-3に示した。経過日数に伴う「成熟」と判定されるディスク割合の増加率を成熟速度とみなすと、ディスクの大きさが小さいものほど成熟速度が速くなっており、しかも直径9.0 mmのディスクは、7日後に90 %以上「成熟」した。

細断後の経過日数に伴う「遊走細胞放出」と判定されるディスク割合の推移を図3-4に示した。遊走細胞放出についても「成熟」と同様に、ディスクの大きさが小さいものほど短期間の内に胞子を放出したが、それぞれの値は、成熟についての値(図3-3)より1日ほどずれて値が高くなる傾向が見られた。ディスクは各サイズとも実験終了時まで、成長が少なかった。細断後2日ではディスクのサイズが大きくなるにつれ仮根を持つディスクの割合が高い傾向にあったが、5日後では0.9 mmを除きどのサイズも90 %以上の有仮根率を示した(表3-2)。

培養温度と藻体ディスクの成熟との関係： 細断後の

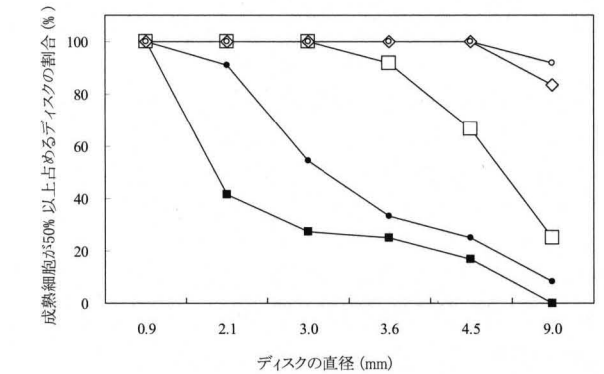


図3-3 ディスクの大きさと成熟との関係を示した。ディスクは採取後5日の藻体から切り出され、7日間培養された。成熟細胞が50% 以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(■), 4日間後(●), 5日間後(□), 6日間後(◇), 7日間後(○)

表3-2 採取後5日後の藻体を用いた、異なるディスクの大きさにおける相対成長割合と仮根形成割合

ディスクの大きさ	0.9 mm	2.1 mm	3.0 mm	3.6 mm	4.5 mm	9.0 mm
相対成長割合 ¹⁾ (%)	105	113	114	110	110	114
相対仮根形成割合 ²⁾ (%)						
2日後	50	67	75	88	92	92
5日後	58	92	92	100	100	100

1) 相対成長割合 (%) = 7日後の平均直径値 / 初期直径値 × 100
2) 相対仮根形成割合 (%) = 2または5日後の仮根保有ディスク数 / 24 × 100

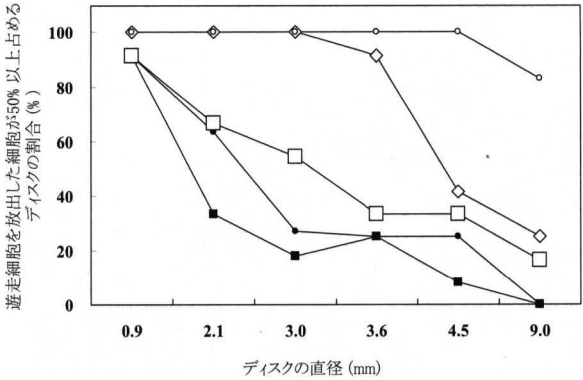


図3-4・ディスクの大きさと遊走細胞放出との関係を示した。ディスクは採取後5日の藻体から切り出され、7日間培養された。遊走細胞を放出した細胞が50% 以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(■) 4日間後(●), 5日間後(□), 6日間後(◇), 7日間後(○)

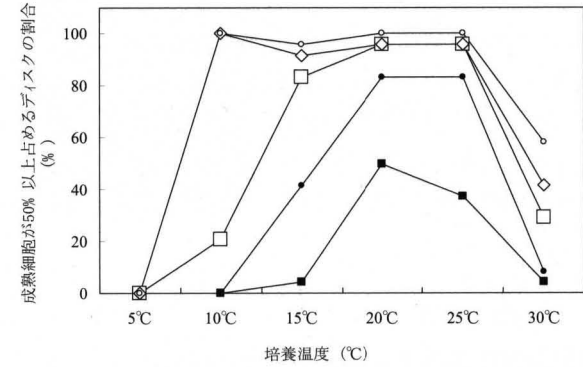


図3-5 培養温度と成熟との関係を示した。ディスクは採取後5日の藻体から切り出され、7日間培養された。成熟細胞が50% 以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(■), 4日間後(●), 5日間後(□) 6日間後(◇), 7日間後(○)

経過日数に伴う「成熟」ディスク割合の推移を図3-5に示した。20℃で最も成熟速度が速く、それよりも培養温度が高く、若しくは低くなると成熟速度は落ちた。実験終了時に、5℃では全ディスク、10℃では4%, 30℃では8%のディスクが未成熟であった。細断後の経過日数に伴う「遊走細胞放出」ディスクの割合の推移を図3-6に示し

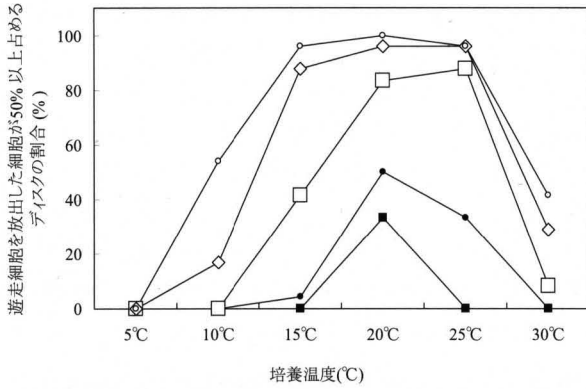


図3-6 培養温度と遊走細胞放出との関係を示した。ディスクは採取後5日の藻体から切り出され、7日間培養された。遊走細胞を放出した細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(■), 4日間後(●), 5日間後(□), 6日間後(◇), 7日間後(○)

た。「成熟」と同様に 20 °C が最も短期間に孢子放出割合が高くなり、10 °C 及び 30 °C では遊走細胞放出速度は遅れた。15 °C 以下で有仮根率は 95% 以上を示したが、20 °C 以上は 0 ~ 30% と低かった。どの温度においてもディスクの大きさは実験終了時まで目立った増加が見られなかった (表 3-3)。

2. 塩分濃度・光量

塩分濃度と藻体ディスクの成熟との関係： 図 3-7 に、異なる塩分濃度での「成熟」の割合を示した。藻体から切り出して5日後に、「成熟」となった割合が 70 % 以上になったのは塩分濃度 5.0 ~ 52.0 psu の範囲であった。6.6 psu 以下および 59.4 psu 以上では、割合が減少した。0, 1.6, 66.3 psu では、「成熟」となる割合は 0% であった。図 3-8 に、「遊走細胞放出」となる塩分濃度の範囲を示した。藻体から切り出して4および5日後に、「遊走細胞放出」となった割合が 50% 以上になったのは塩分濃度 13.2 ~ 45.3 psu の範囲であった。「遊走細胞放出」となる割合は、13.2 psu 以下と 45.3 psu 以上で減少した。3.3 psu 以下と 59.4 psu 以上では、「遊走細胞放出」となる割合は 0% であった。

光量と藻体ディスクの成熟との関係： 図 3-9 に、異なる光量値での「成熟」の割合を示した。培養 5 日後では、16 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上の条件下で「成熟」となる割合が

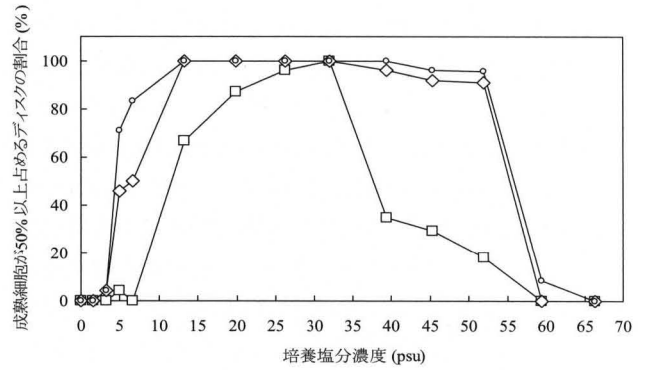


図3-7 培養塩分と成熟との関係を示した。ディスクは5日間培養された。成熟細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(□), 4日間後(◇), 5日間後(○)

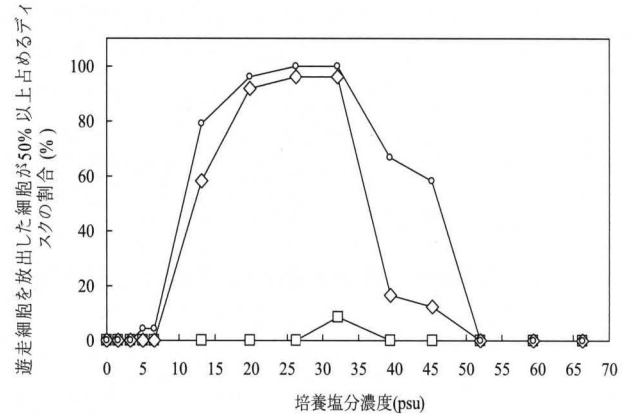


図3-8 培養塩分と遊走細胞放出との関係を示した。ディスクは5日間培養された。遊走細胞を放出した細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(□), 4日間後(◇), 5日間後(○)

100% となった。4 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以下では、「成熟」となる割合は 0% であった。光量 40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上では、培養 3 日後に「成熟」となる割合は 100% に達した。また、光量 40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ までは光量値の上昇に伴って、「成熟」となる割合が増大した。図 3-10 に、「遊走細胞放出」となる割合の光量値の範囲を示した。5 日後には、16 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上で「遊走細胞放出」となる割合は 100% となった。4 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以下では、割合は 0% であった。

仮根形成： 図 3-11 に、成熟部分を持ち、仮根を形成したディスクの写真を示した。仮根は遊走細胞を放出したディスクの反対側でのみ形成されるという極性を示した。

表3-3 異なる培養温度における相対成長割合と仮根形成割合

培養温度		5 °C	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C
相対成長割合 ¹⁾	(%)	100	103	106	102	105	108
相対仮根形成割合 ²⁾	(%)	96	100	96	30	11	0

1) 相対成長割合 (%) = 5 日後の平均直径値 / 初期直径値 × 100

2) 相対仮根形成割合 (%) = 5 日後の仮根保有ディスク数 / 24 × 100

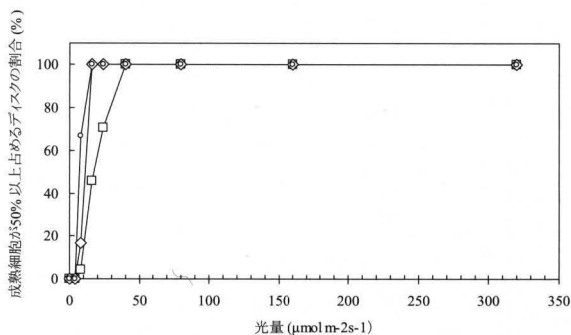


図3-9 光量と成熟との関係を示した。ディスクは5日間培養された。成熟細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(□), 4日間後(◇), 5日間後(○)

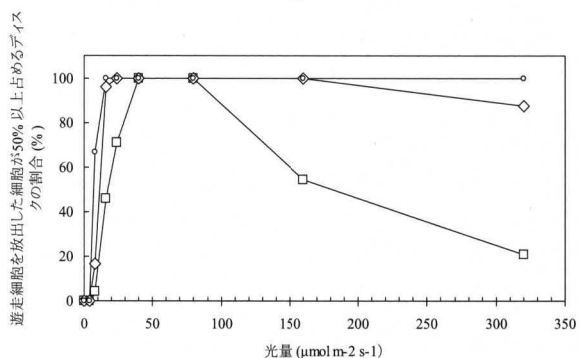


図3-10 光量と遊走細胞放出との関係を示した。ディスクは5日間培養された。遊走細胞を放出した細胞が50%以上占めるディスクの割合を示した。3日間培養後の割合(□), 4日間後(◇), 5日間後(○)

図3-12に、培養3日後の異なる塩分濃度での仮根を形成したディスクの割合を示した。塩分濃度0, 59.4, 66.3 psuでは仮根は形成されなかった。仮根を形成したディスクの割合が70%以上となるのは塩分濃度1.6~52.0 psuの範囲であった。図3-13に、培養3日後の異なる光量値での仮根を形成したディスクの割合を示した。光量0 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ では仮根は形成されなかった。光量が増加するにつれ、4~40 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ の範囲では仮根を形成したディスクの割合は増加したが、80 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上では減少した。

3. 藻体の基部から先端部までの遊走細胞放出の割合

図3-14に藻体の基部から先端部までにおける切り出されたディスクの遊走細胞放出の面積の割合の平均値を示した。藻体の最先端部である1番では遊走細胞放出の面積割合が58%であるが、次の2~3番では30~35%と急激に下がった。先端部から基部に向かい放出率は減少傾向にあり、基部付近では1~5%と、ほとんど遊走細胞の放出が見られなくなる。このことから、藻体の先端から基部に向かい放出面積割合が低下する傾向が認められた。

考 察

スジアオノリの成熟には、月齢リズムがあり大潮時に合

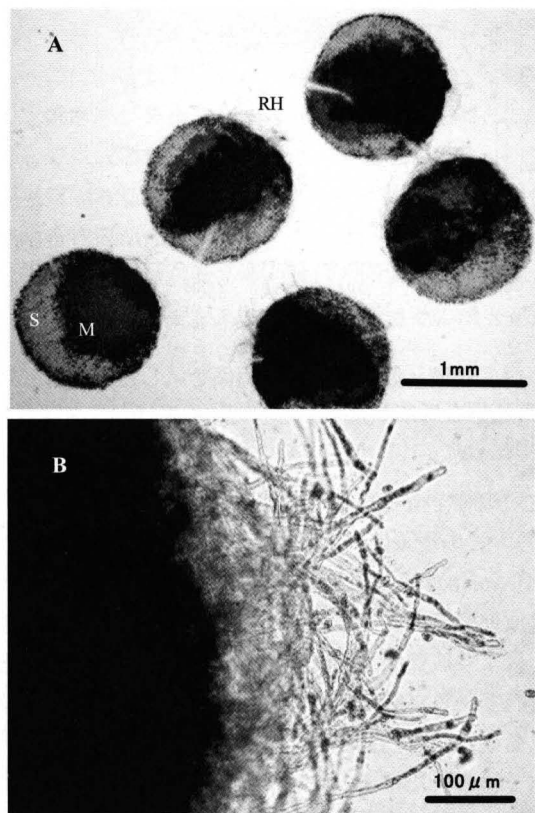


図3-11 塩分濃度45.3 psuの滅菌海水、培養温度20°C、12時間明期、12時間暗期、光量40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ で5日間培養したディスク。

A: ディスクの明るい部分は成熟した細胞(M)と遊走細胞を放出した細胞(S)を示している。RHは、仮根を示している。

B: Aで示されたRH部分を拡大したディスクの縁に発達した仮根を示している。

わせて生殖細胞の放出のピークがあることが知られている(Christie and Evans 1962; Pandey and Ohno 1985)。このため、自生のスジアオノリから生殖細胞を得るためには成熟時期に合わせて採取しなければならなかった。しかし、藻体を数ミリに細断することで栄養細胞が数日のうちに生殖細胞へと分化する現象が見つけられたため任意

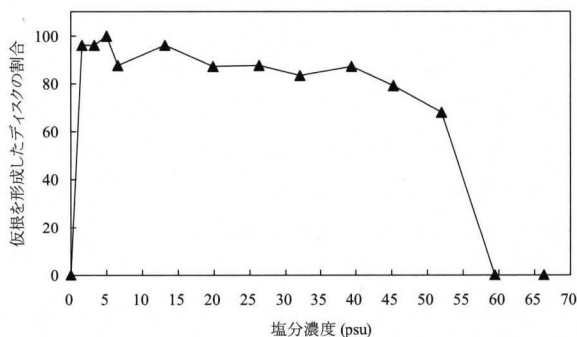


図3-12 塩分と仮根形成との関係を示した。塩分に対する仮根を形成したディスクの割合で、ディスクは3日間培養した。

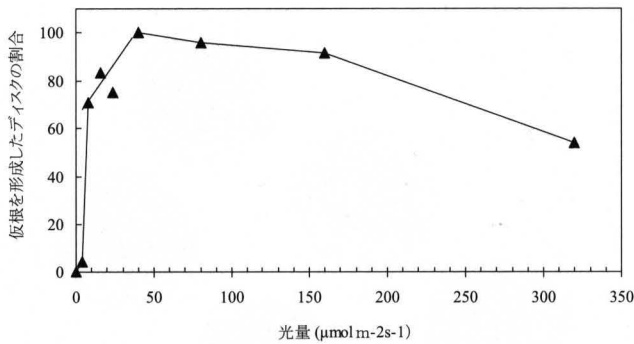


図 3-13 光量と仮根形成との関係を示した。光量に対する仮根を形成したディスクの割合で、ディスクは3日間培養した。

に生殖細胞を得ることができるようになった（團ら 1997）。この現象はアオサ属植物でも見られる（Nordby and Hoxmark 1972; Hiraoka and Enomoto 1998）。アオサ細胞は成熟阻害物質を生産分泌しており、藻体を細断することにより成熟阻害物質が流出し、成熟が開始すると報告されている（Stratmann *et al.* 1996）。スジアオノリ藻体にも成熟阻害物質が存在すると思われるならば、今回の実験で得られた結果の説明は容易にできる。すなわち、成熟阻害物質は藻体内に蓄積されていると思われ、細断サイズが小さいディスクほど成熟阻害物質の流出が短期間に起こり、成熟が早く進むのに対し、サイズが大きいと流出に時間がかかり成熟が遅なると推察された。

本研究では、用いた藻体の保存期間が短い場合には、ディスクの成熟は一部にとどまり成長に向かった。「細断ディスク・サイズと成熟度の関係」の項での2実験の基本的な違いは、藻体の日齢の違いだけである。つまり、天然から採取してきた直後の藻体と5週間恒温室内で保存したものとの差である。成長期の藻体には成熟阻害物質が多く存在すると思われるならば、長期保存処理により成熟阻害物質に変化が生じたと推察される。しかし、直径0.9mmのディスクでは保存期間にかかわらず高い成熟度を示しており、このサイズが成熟誘導には最適の大きさと言える。

吉野川での天然採苗は、河川水温が25℃を下回る10月上旬から開始され、15℃を下回る11月下旬に終了する。今回の実験結果から、「遊走細胞放出」ディスクの割合が実験開始7日目に90%以上となった温度は15～25℃であり（図3-6）、この範囲がスジアオノリの遊走細胞が放出され易い温度帯と考えられた。これは、天然採苗の期間内の温度帯と一致した。スジアオノリの「成熟」及び「遊走細胞放出」に最適な温度帯、すなわち、人工採苗に最適な温度帯は20～25℃であることが今回の実験結果で分かった。人工採苗は通常、屋外の止水タンクで行うため水槽内水温は外気温の影響を受け易い。20～25℃の範囲の外気温は徳島県北部では5～6月、9～10月中旬

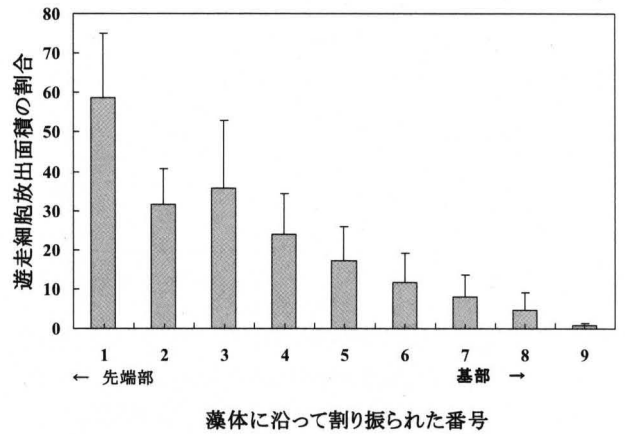


図3-14 藻体軸に沿った遊走細胞放出率の分布。番号は、先端部から基部にかけ20cmごとに割り振られている。垂直の棒はS Dを示している（n=30）。

にあたる。春の漁期では3～4月に人工採苗する必要があるため、水槽の加温等の工夫が必要となるであろう。スジアオノリの成長に適した温度は、室内培養では15℃が成熟量より生長量が上回る温度帯である（平岡ら 1999）。吉野川でのスジアオノリ養殖では20℃を下回らないと藻体の成熟等により成長しないと経験的に言われており、成熟および遊走細胞放出に適した温度帯と成長に適した温度帯は異なると言える。

本研究では、塩分濃度5.0～52.0 psuの範囲がスジアオノリの成熟のために好適な条件であることが示されている。しかしながら、遊走細胞放出のために好適な条件は13.2～45.3 psuと狭まっている。Nordby (1977) は、*U. mutabilis* の細断4日後の高い成熟の割合は13～45 psuであると報告しており、本研究での結果と大きく異なることはなかった。ボウアオノリ *E. intestinalis* の発芽体の成長にとっての好適な塩分濃度は16～40 psuの範囲である（Kim *et al.* 1996）。スジアオノリの発芽体の成長にとっての最適な範囲は15.7～35.0 psuである（Htun *et al.* 1986）。広塩性であるスジアオノリは、四万十川で0.3～33.1 psuの塩分範囲で成長することができる（大野・高橋 1988）。本研究で、スジアオノリの遊走細胞放出のための好適な塩分濃度は13.2～45.3 psuであることを示したが、この値は塩分が変動する生息環境を考慮しても狭い値のようである。

通常の好適な条件下では成熟に引き続き遊走細胞の放出が起こるが、過去の研究者達は成熟と遊走細胞の放出という2つの段階を区分することはなかった。しかし、極端な条件下では成熟が遊走細胞の放出まで完了しないことがあるので、この2つの段階は厳密に区分されなければならない。例えば、塩分濃度が3.3や59.4 psuという極端な場合では、成熟した細胞はみられるが遊走細胞の放出は観察されない。

スジアオノリの養殖は徳島県吉野川の河口域でおこな

われており、塩分濃度は通常は20～30 psuの範囲である(北角ら1991, 湯浅ら1997, 湯浅ら1998, 高木ら1999, 高木ら2000, 天真ら2001)。そのため、これは好適な遊走細胞放出のための塩分濃度の範囲内に入っているといえる。本研究での結果は6.6 psu以下の極端な低塩分では遊走細胞の良好な放出は起こらないことを示している。降雨による養殖漁場の低塩分は、養殖スジアオノリの成長を低下させ、さらには藻体の消失を引き起こすことが知られている(大野・松岡1992)。塩分濃度3.3～6.6 psuの範囲では、スジアオノリ藻体は遊走子嚢または配偶子嚢に生殖細胞を形成することができるが、このような低塩分では遊走細胞を良好に放出しない。養殖漁場の塩分濃度が13.2 psu以上に上昇したならば、遊走細胞の良好な放出が始まり、その過程で成熟藻体が消失してゆくと考えられる。

本研究では、成熟および遊走細胞放出のための最適な光量は $16 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上であることが分かった。さらに、光量の増加はディスク細胞の成熟を誘導する傾向があった。培養5日後の観察では、光量 $16 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上では「成熟」とされる割合は100%であった。Nordby (1977)は、*U. mutabilis*の藻体片を培養2日後に観察した結果、最適な成熟を誘導するための光量は $42 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上であり、成熟を起こすための下限の光量は $2\sim5 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 付近にあると報告している。本研究では成熟を誘導する光量の下限は $8 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ であり、Nordbyの値と大きく異なることはなかった。しかし、最適な光量についてはNordbyの値より低いものであった。この理由としては、用いた種の違いにもよるだろうがNordbyの観察期間が2日間であったために、その後、成熟が $42 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ よりも低い光量でも進んだ可能性があると考えられた。

スジアオノリ養殖のための人工採苗技術は、細断した藻体を養殖網とともにタンクに入れ、放出された遊走細胞を網に付けるというものである。多くの網をタンクに入れた場合、網の中央部では外側に比べ光量は低下する。遊走細胞放出のために必要な光量が $16 \mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ という低いものであるならば、タンク内に入れることができる網数を増やすことができ、人工採苗をおこなう上では有利なことと考えられる。

スジアオノリの形態は紐状の長い藻体である。スジアオノリやヒラアオノリでは成熟は先端部から始まることが多く(館脇1994)、藻体の基部から先端部にかけて成熟率に差があるのではないかと予想された。アナアオサの成熟は、葉の縁辺部から中心部に向かい段々と明瞭な帯状に進む(館脇1994)。Hiraoka *et al.* (1998)は、アナアオサを用い場所を違えてディスクを切り出したが、縁辺部では成熟しやすい状態になっているが付着根付近から切り出されたディスクはほとんど成熟しなかった。このため、アナアオサの栄養藻体には付着根から縁辺にかけて成熟

阻害物質の濃度勾配が存在し、付着根付近で濃度が高くなっている、若しくは縁辺部で成熟しやすい状態になっていると彼は示唆している。本研究では、これと同様の手法の実験をスジアオノリで行ったが、藻体の基部から先端部までに成熟率に差が存在し、先端部付近にかけ成熟率が上昇することが明らかとなった。スジアオノリにも成熟阻害物質が存在すると考えれば、スジアオノリの成熟は先端部方向から始まるのは成熟阻害物質が藻体内で軸に沿って濃度勾配があり、先端部ではその濃度が最も低いためであると考えられた。

Lersten *et al.* (1960)は、タレットアオノリ *E. clathrata*, ボウアオノリ *E. intestinalis*, ウスバアオノリ *E. linza*の藻体片の再生について調べ、完全に遊走細胞の放出をおこなわない場合には、仮根の形成をおこなうことを報告している。團ら(1998), Dan *et al.* (2002)もスジアオノリから切り出したディスクが仮根を形成することを報告している。Lersten *et al.* (1960)は、ボウアオノリとウスバアオノリの藻体片では元の藻体基部方向の端にのみ仮根を形成するという極性を報告している。本研究でも、切り出されたスジアオノリのディスクは仮根を形成し、ボウアオノリやウスバアオノリと同様に仮根形成は極性を持っていることを示している。

図3-15に、スジアオノリの葉体を細断した後の、ディスクの変化を模式的に示した。藻体片の上部(元の藻体の基部の反対方向)で成熟や遊走細胞の放出が起こり、日数の経過とともに成熟および遊走細胞放出部位が広がってゆく(図3-15A,B)。成熟が起こらないか、または、一部でしか起こらなかった場合には、藻体片は仮根を形成しながら成長する(図3-15C)。藻体を非常に小さなサイズの藻体片に切った場合、仮根は形成されることはない。短時間に成熟と遊走細胞の放出が起こるため、全ての栄養細胞は遊走細胞となり、それゆえ仮根を形成することはできないのである(図3-15F)。藻体片の仮根形成と成熟は、それぞれ独立して起こり、細断後のディスクが成長に向かうか成熟に向かうかは、ディスクに残っている成熟阻害物質の量とその流出の速度により決定されると考えられる。

塩分濃度0～102 psuの範囲で5～6 mmのボウアオノリ藻体片を用いた仮根形成について研究が行われている(Reed *et al.* 1979)。彼らは、潮間帯、潮間帯上部および海のボウアオノリ群落から採取したものからの藻体片の塩分濃度に対する仮根形成率を報告しており、その報告によると潮間帯の群落からの藻体片では塩分濃度0および95 psuでは仮根を形成しなかった。そして、64 psuで仮根形成率は著しく低下したとある。本研究でも、0, 59.4, 66.3 psuでは仮根を形成しなかった。これらの結果はReed *et al.* (1979)の結果に非常に近いものであった。本研究で分かった仮根形成のための好適な細断サイズ、温度、塩

分および光量の範囲はアオノリ属の培養された藻体片を用いた種苗作りのために有益な情報となった。もし、大きなサイズの藻体片を養殖網に付けることが可能であるならば、通常の天然採苗を用いた場合より早く収穫することができるであろう。切断されたスジアオノリの藻体

は新しい分枝を再生する (Moss and Marsland 1976) ため、スジアオノリ養殖にとり効果的な種苗となると考えられる。

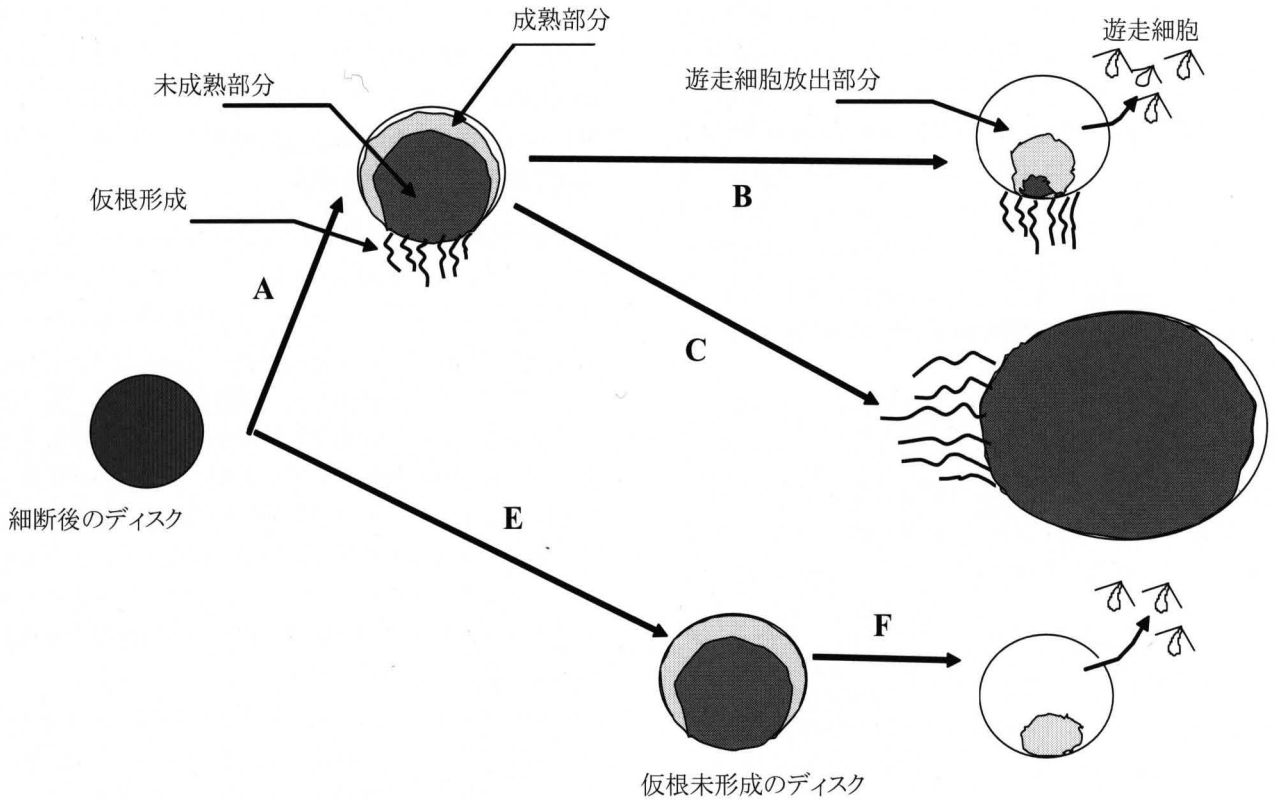


図 3-15 細断後ディスクの推移の模式図。藻体からディスクを切り出した場合、切り出した面で藻体の基部の方向に仮根がしばしば形成される (A)。成熟と遊走細胞の放出は、仮根が形成された反対の縁で起こる (A, B)。成熟が起こらない、または、一部にしか起こらなかった場合は、ディスクは大きくなる (C)。ディスクが非常に小さい場合は、成熟や遊走細胞の放出は素早く起こり、仮根は形成されない (E, F)。D, G, H は、極端な低塩分、低光量、高温などの状態を示している。

第4章 成熟機構

アオノリ類の生育特徴には急激なバイオマスの増加または減少がある(大野ら1999)。アオノリ養殖では、春季の水温上昇時の急激な藻体の成長と、降雨の後などの生育環境の低塩分が引き金となった急激な藻体の流出が養殖管理上の問題となっている(團ら1997)。アオノリ属のバイオマスの減少は、藻体の栄養細胞の生殖細胞嚢への分化と、生殖細胞の放出により藻体組織が流出するためである。

Ulva mutabilis とアナアオサ *U. pertusa* では、藻体に成熟を阻害する物質を含んでおり、ある程度の濃度に保たれている時には栄養成長をするが、何らかの原因で減少すると、成熟するといわれている(Nilsen and Nordby 1975, Nordby 1977, Hiraoka and Enomoto 1998)。スジアオノリにおいても、類似した働きのある物質が存在する可能性が高いと考えられるが、このことについての研究は見当たらない。本章では、スジアオノリ藻体の成長、成熟に関わる孢子形成阻害活性を決定する方法を明らかにし、成熟を起こす作用機構について検討した。

材料と方法

スジアオノリ藻体から直径0.9 mm程度の円形に切り取った小さな藻体片(ディスク)の栄養細胞は、2~3日で生殖細胞を形成して放出する(團ら1997, 團ら1998)。切り出されたディスクを孢子形成阻害物質が含まれる溶液に入れたならばディスクは周囲の孢子形成阻害物質の影響を受け成熟が抑制されると推察される。生殖細胞が放出された後の細胞は白く見えるため、栄養細胞(緑色)及び未放出の生殖細胞嚢(茶色)と容易に区別することができる(第3章, 図3-1)。ディスクの孢子を形成した部分の面積は孢子形成阻害物質の濃度依存的に変化する(Dan et al.2003)ため、ディスクを用いた培養で孢子形成阻害物質の相対量としての活性を把握することができる。本章では、このディスクを利用した生物検定を実施し、スジアオノリ藻体に含まれる孢子形成阻害物質の存在の確認、藻体中での分布、成長の段階での孢子形成阻害物質が生産蓄積される時期について検討した。なお、本章で材料として用いた藻体は2000年11月に吉野川で採取されたものを継代培養した吉野川スジアオノリ系統株で、無性の生活史をおこない、2本鞭毛を持った遊走細胞を常に放出するものである(Hiraoka et al.2003)。

実験1. 成熟阻害物質の存在

図4-1に、藻体からの抽出濾過液の作成と藻体ディスクを利用した生物検定についての手順を示した。培養藻体2 gを外径9 cmのガラス乳鉢に入れ-20℃で1時間凍結後、海砂(425~850 µm, 20~35 mesh, 和光純薬工業株式会

社)を0.8 g加え摩砕したものを、20 psuの海水100 mlで洗浄しながら200 mlビーカーに入れ、往復振とう機(MULTI SHAKER MMS, 東京理化工機株式会社)上で1時間攪拌した。この溶液をメンブレンフィルター(Cellulose Acetate Filter, アドバンテック株)孔径3, 0.45, 0.2 µmで吸引濾過した。このスジアオノリ藻体抽出濾過液を20 psuの滅菌ろ過海水で希釈し、9段階の濃度勾配液を作成した。すなわち、抽出濾過液原液の2.5, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70%になるように希釈した溶液を50 mlずつ作成した。生物検定に用いるディスクの作成として、培養藻体から皮細工用のパンチを用い直径0.9 mmのディスクを250枚切り出した。ディスクを20 psuの海水で充分洗浄したのち、先ほどの希釈液と20 psuの海水だけが入っている50 mlの培養液が満たされた滅菌プラスチックペトリ皿(直径90 mm高さ20 mm)に25枚ずつ入れた。ディスクは、20℃, 光量40 µmol s⁻¹ m⁻² (12時間明期, 12時間暗期)で3日間培養された。

培養後のディスクは、第3章の「藻体の基部から先端部までの遊走細胞放出率」の項の方法と同様の画像解析処理を行い、遊走細胞放出部分の面積の割合を求めた。

実験2. スジアオノリ藻体管状構造における孢子形成阻害活性の分布

系統株(藻体長640 mm, 藻体幅4-5 mm)から湿重量1.12 gを採取し、20 psuの海水100 mlを満たした200 mlビーカーに入れ、往復振とう機上で1時間攪拌した。藻体を取り出した後の海水を孔径0.2 µmのメンブレンフィルターで濾過した。この濾液を生物検定開始まで-20℃で凍結保存した(以下、この濾液を「藻体外液」と呼ぶ)。次に、管状の分枝の内側に孢子形成阻害物質が含まれる可能性が考えられるので、藻体から伸びている分枝全てを、眼科用ハサミで分枝基部から切断除去した。この藻体を20 psuの海水100 mlとともにブレンダーに入れ、藻体片が1層細胞になるまで切断した。この時、切断する大きさはなるべく大きくなるようにするために切断に要する時間をできるだけ短くした。切断後、藻体片の入った海水を200 mlビーカーに移し、往復振とう機(MULTI SHAKER MMS, 東京理化工機株式会社)にのせて1時間攪拌した後、孔径20 µmのミューラーガーゼで藻体片と濾液とに分離し、さらにこの濾液を孔径0.2 µmのメンブレンフィルターで濾過したものを、生物検定開始まで-20℃で凍結保存した(以下、この濾液を「管内液」と呼ぶ)。残った藻体片を用い、実験1と同様の摩砕濾過処理をした100 mlの濾液を生物検定開始まで-20℃で凍結保存した(以下、この濾液を「細胞内液」と呼ぶ)。

凍結しておいた3種類の濾液を室温(約20℃)で解凍したものに抗生物質混液(Penicillin 5000 Units/ml・Streptomycin 5 mg/ml, 和光純薬工業株式会社)0.2 mlを添

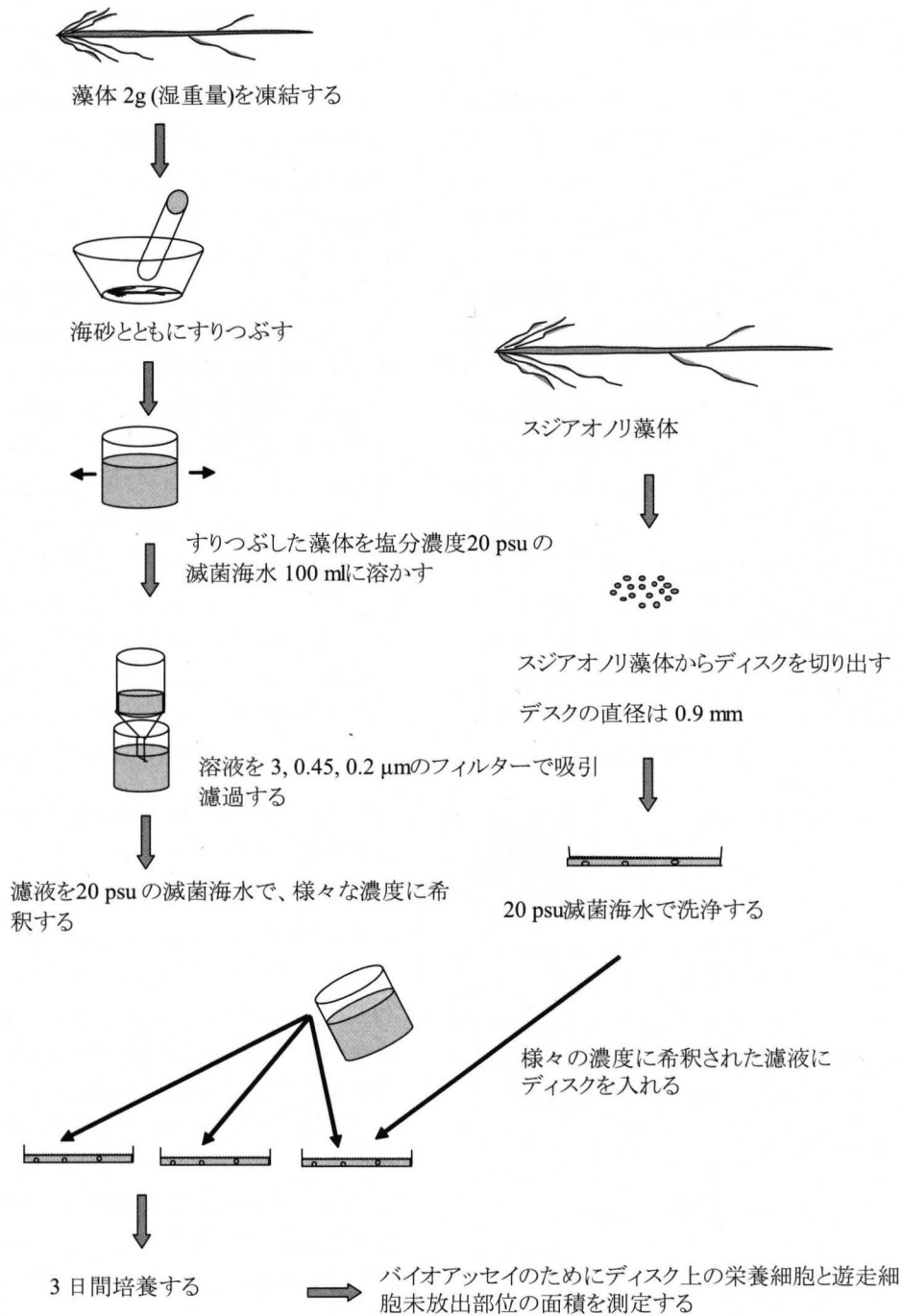


図4-1 スジアオノリのディスク小片と濾液を用いたバイオアッセイの工程

加し、それぞれ 50 ml ずつを滅菌プラスチックペトリ皿（直径 90 mm，高さ 20 mm）に満たした。生物検定を行うため、スジアオノリ藻体から、皮細工用のパンチを用い直径 0.9 mm のディスクを 100 枚切り出し、20 psu の海水で充分洗浄したのち、先ほどの濾液 50 ml が満たされたペトリ皿と、対照として 20 psu の海水 50 ml だけが入ったペトリ皿に、ディスクを 25 枚ずつ入れた。ディスクは、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）で 3 日間培養されたのち実験 1 と同様の方法で測定し、遊走細胞放出面積の割合を求め、Nilsen and Nordby(1975)の方法を改変した次式により孢子形成阻害活性（Activity rate of SI [Sporulation Inhibitor]）を決定した。

$$\text{孢子形成阻害活性 SI (\%)} = \left[\frac{\text{対象の遊走細胞放出面積 (\%)} - \text{試料の遊走細胞放出面積 (\%)}}{\text{対象の遊走細胞放出面積 (\%)}} \right] \times 100$$

実験 3. スジアオノリ幼体の培養条件と孢子形成阻害活性の関係

実験 3-1 スジアオノリの遊走細胞を，塩分 20 psu の PES 培地を 50 ml 満たした滅菌プラスチックペトリ皿（直径 90 mm，高さ 20 mm）数枚に播種し，20 $^{\circ}\text{C}$ ，光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ，12 時間明期，12 時間暗期で培養し，平均藻体長 1.6 mm となったところでスジアオノリ藻体を薬匙でペト

リ皿の底から削り取った。このスジアオノリ藻体の湿重量2 gを塩分20 psuのPES培地2lを満たした3 l三角フラスコに入れ、15℃、光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (12時間明期、12時間暗期)で39日間、通気培養した。この間、3～4日ごとに培地を交換し藻体抽出液を作成するために藻体を0.5 g (湿重量) ずつ採取した。同時に、50本分の藻体長も測定した。培地交換の方法は孔径20 μm のミューラーガーゼで藻体を受け、藻体にストレスを与えないよう速やかに新しい培地の入った容器へ移した。植継ぎ量は、藻体にストレスを与えると成熟が引き起こされるため正確には測定できなかったが、最初は湿重量2 g程度とし、藻体の成長に伴い増加させた。なお、培養容器は藻体の成長に伴い培養開始21日目からは10 l培養ビンに変え培養を行った。通気量は、図4-2に示したように藻体が充分回

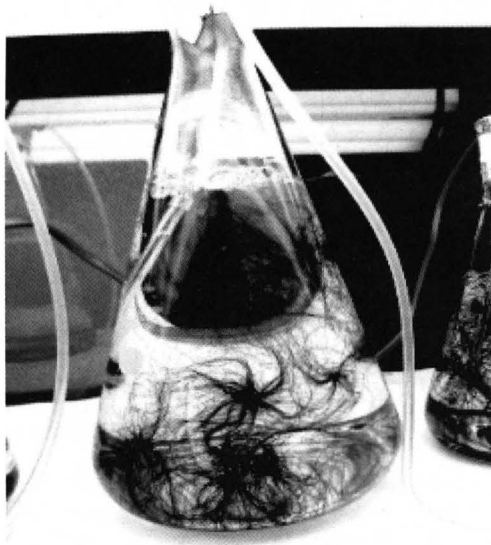


図4-2 スジアオノリの培養。藻体は、常に水流により回転している。

転する量の通気とした。

実験3-2 次に培養中成熟が起きた場合の藻体中に含まれる孢子形成阻害活性を確認した。平均藻体長が0.47 mm となったところでスジアオノリ藻体を葉匙でペトリ皿の底からこそぎ取り、湿重量2 gを塩分20 psuのPES培地を9 l満たした10 l培養ビンに入れ、20℃、光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ 、12時間明期、12時間暗期で42日間、通気培養した。この時、スジアオノリの最適成長水温より高めの20℃で培養し(平岡ら1999)、成熟を起こしやすくした。7日ごとに培地を交換し藻体抽出液を作成するために藻体を0.25 g (湿重量) ずつ採取するとともに、50本分の藻体長を測定した。培地交換の方法は孔径20 μm の

ミューラーガーゼで藻体を受け、回収した藻体全てを網付きの遠沈管に入れ、遠心機で1100 rpm、5分間脱水した。このうち湿重量2 gを新しい培地へ植継いだ。通気量は、藻体が充分回転する量の通気とした。

抽出濾過液の作成は、培養液の交換時に採取した藻体(実験3-1は、湿重量0.5 g、実験3-2は0.25 g)を前項と同様の摩砕濾過処理をし、濾液を生物検定開始まで-20℃で凍結保存した。

生物検定は、採取時ごとに凍結しておいた100 mlの濾液を室温(約20℃)で解凍し、実験3-1では、抽出液の4%に、実験3-2では10%の濃度となるように20 psuの海水で希釈した。この溶液50 mlと対照として20 psuの海水50 mlを滅菌プラスチックペトリ皿(直径90 mm、高さ20 mm)に満たし、実験2と同様の抗生物質を添加した。スジアオノリ藻体から直径0.9 mmのディスクを450枚切り出し20 psuの海水で充分洗浄したのち、先ほどの濾液と海水が満たされたペトリ皿にディスクを25枚ずつ入れた。ディスクを、20℃、光量 $40 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ (12時間明期、12時間暗期)で3日間培養したのち、実験2と同様の方法で測定し、孢子形成阻害活性を求めた。

実験4. 野外養殖藻体の成長と孢子形成阻害活性との関係

2000年12月1日に、徳島県吉野川汽水域のスジアオノリ養殖漁場で養殖漁業者の立ち会いのもと、筆者らが肉眼的観察により藻体長が長いと判断するスジアオノリが生育している4枚の養殖網と、藻体が短いと判断した養殖網3枚を選び出した。それぞれの網から1節分の藻体を網糸ごと採取した。藻体が短いと判断されたスジアオノリ(図4-3-B)は、藻体の長いスジアオノリ(図4-3-A)に比べ先端部が成熟し流出した個体が多く認められた。採取したスジアオノリ藻体は、塩分20 psuの海水の入ったビニール袋に入れ、5℃の条件下で研究室に持ち帰った。各網の採取物ごとに、網糸1 cmに生育しているスジアオノリの藻体長を長いものから30～50本ずつ測定した。また、藻体に含まれる孢子形成阻害物質を抽出するため、各網からの採取物で6 cm以上の藻体(6 cm未満の場合はできるだけ大きな藻体)を選び、湿重量1.0 gを取り、外径9 cmのガラス乳鉢に入れ-20℃で1時間凍結後、海砂(425～850 μm , 20～35 mesh, 和光純薬工業株式会社)を0.8 g加えて擦り潰した。藻体摩砕物の入ったガラス乳鉢に20 psuの滅菌海水100 mlを入れ、摩砕物を洗浄しながら200 mlビーカーに流し込み、往復振とう機(MULTI SHAKER MMS, 東京理化器械株式会社)上で振とう速度160 r.p.m.で1時間攪拌した。攪拌後の溶液をメンブレンフィルター(Cellulose Acetate Filter, アドバンテック株式会社)の孔径3, 0.45, 0.2 μm の順で吸引濾過した。この濾液を生物検定開始まで-20℃で凍結保存した。

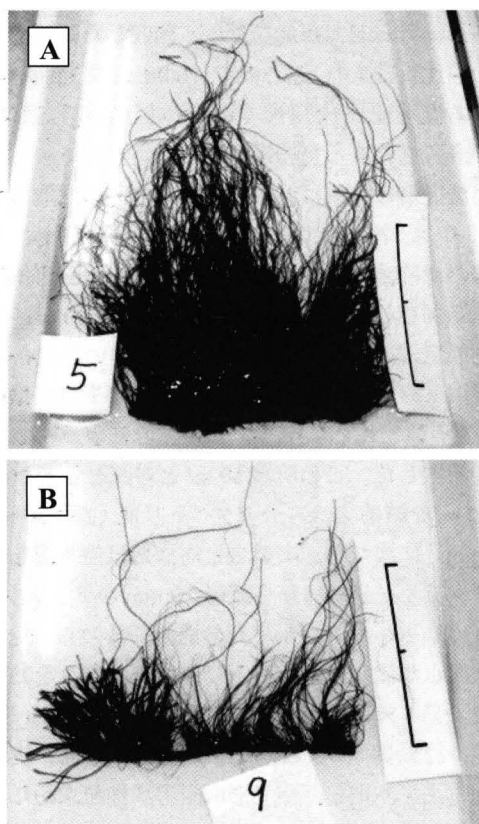


図4-3 2000年12月，徳島県吉野川汽水域で採取した養殖網糸上のスジアオノリ藻体。写真上の試料番号5は，よく成長した藻体を示している。写真下の試料番号9は，成熟した藻体を示している。写真中の垂直の棒は10 cm。

生物検定をおこなうため，各網の採取物からの抽出濾過液を室温（約20℃）で解凍し，20 psuの滅菌海水で抽出濾過液の7.5%になる割合に希釈した。これらの希釈された濾液50 mlが満たされた滅菌プラスチックペトリ皿（直径90 mm，高さ20 mm）7枚と対照区としての20 psuの滅菌海水50 mlが入ったペトリ皿に抗生物質混液（Penicillin 5000Units/ml・Streptomycin 5mg/ml，和光純薬工業株式会社）を0.2 mlずつ添加した。生物検定を行うため，採取した養殖藻体と生活史が同じスジアオノリ系統株から皮細工用のパンチを用いて直径0.9 mmのディスクを175枚切り出し，20 psuの海水で充分洗浄した。これを希釈濾液と滅菌海水50 mlが満たされたペトリ皿に25枚ずつ入れ，20℃，光量40 $\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$ ，光周期12時間明期，12時間暗期で3日間培養し，実験2と同様の方法で活性を求めた。

結果

実験1. 胞子形成阻害物質の存在

図4-4に抽出濾過液の希釈液中で培養した結果のディスクの写真を示した。各ディスクには遊走細胞が放出され白くなった部分が見られる。図4-5に抽出濾過液の濃

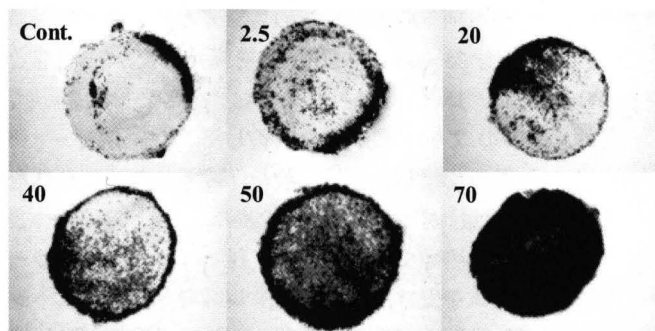


図4-4 遊走細胞の放出は，ディスク上の遊走細胞を放出した細胞の面積の割合として示されている。濾液の濃度(%)は，それぞれの写真の左上に示されている。

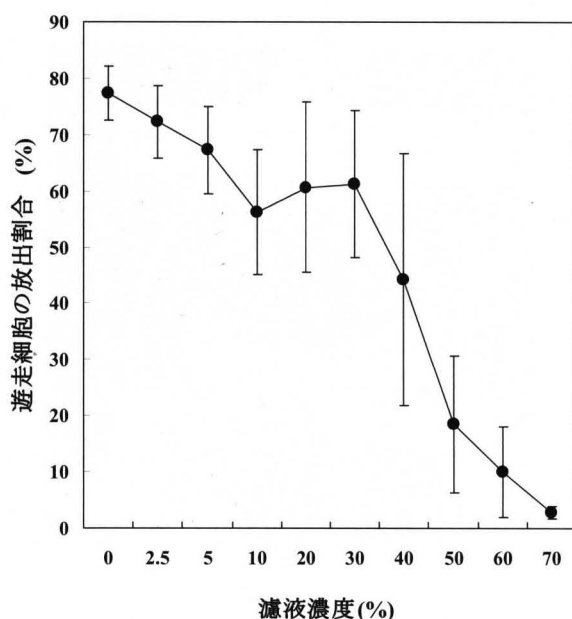


図4-5 遊走細胞の放出割合(%)とスジアオノリ藻体の抽出濾液の濃度との関係。垂直の棒は±標準偏差を示す (n=25)。

度勾配に対する遊走細胞放出面積の割合を25枚のディスクの平均値で示した。対照として抽出濾過液を加えていない場合の遊走細胞放出面積の割合は77.4%であり，希釈濾過液の濃度が10～30%と低い場合は遊走細胞放出面積の割合は約60%であった。しかし，濾過液の濃度が上昇するにつれ遊走細胞放出面積の割合は低下し，70%の場合では放出面積の割合は2.8%であり，ほとんど遊走細胞の放出部位は見られなかった。この結果，スジアオノリ藻体をすり潰して得られた抽出濾過液は濃度依存的に成熟抑制効果がみられた。

実験2. スジアオノリ藻体管状構造における胞子形成阻害活性の分布

図4-6に，スジアオノリ藻体管状構造における「管内」，

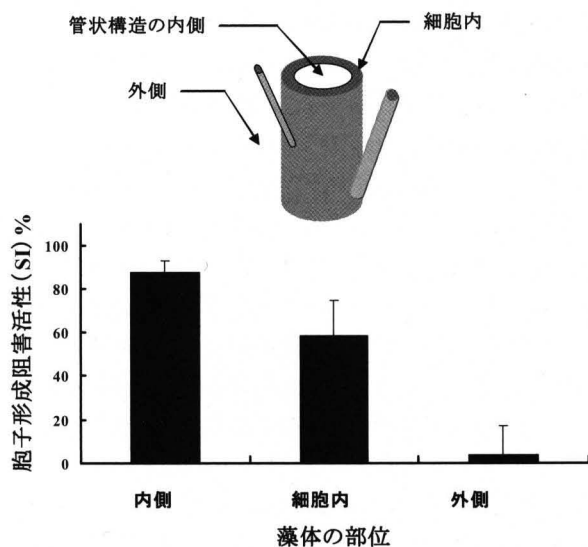


図4-6 藻体の管状構造の部位ごとの孢子形成阻害活性(SI)。垂直の棒は±標準偏差を示している(n=25)。

「細胞内」および「管外」間の生物検定の結果としての孢子形成阻害活性を示した。これによると「管内液」が最も活性が高く87%であり、次いで「細胞内液」が58%であった。「藻体外液」は活性度が10%以下と最も低い値であった。これらの結果から、孢子形成阻害物質は主に管状構造の内側に存在することが示唆された。

実験3. スジアオノリ幼体の培養条件と孢子形成阻害活性の関係

図4-7に40日間室内培養において、順調に成長したスジアオノリ藻体の平均藻体長の推移とそれに対応した孢子形成阻害活性を示した。活性は培養開始5日付近から21日にかけ急激に増大し、極大に達した(100%)。平均藻体長は培養期間中、指数関数的な成長を示した。活性は、培養開始後21日目(平均藻体長が138mm)以降最大となった。

図4-8に40日間室内培養において、培養開始28日目直後に成熟が起き、成長がみられなくなったスジアオノリ藻体の孢子形成阻害活性とそれに対応した平均藻体長の推移を示した。このとき、活性は28日目で最大を示し、以後平均藻体長の減少と一致して活性も低下した。

実験4. 野外養殖藻体の成長と孢子形成阻害活性との関係

図4-9に、野外養殖藻体の試料の孢子形成阻害活性と平均藻体長を示した。試料番号3, 5, 4, 2番は養殖漁業者からの聞き取りを基に、肉眼的観察により藻体長が長いと判断した藻体であり、試料番号10, 6, 9番は、藻体が短いと判断した先端部が成熟流出した藻体であった。また、測定した藻体長と孢子形成阻害活性のデータで、藻体長

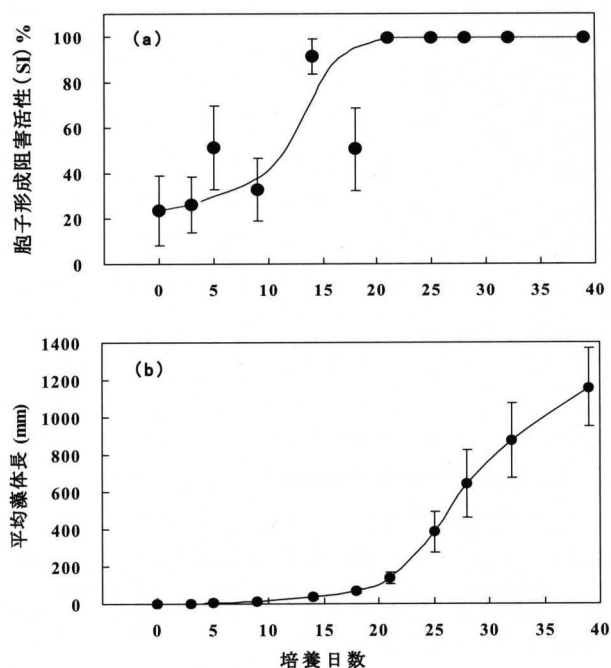


図4-7 上の図は孢子形成阻害活性(SI)(垂直の棒は±標準偏差(n=25))を、下の図は平均藻体長(垂直の棒は±標準偏差(n=50))を示す。藻体の培養は正常な条件下(培養温度15℃)で行われ、開始時の藻体長は1.6 mmであった。

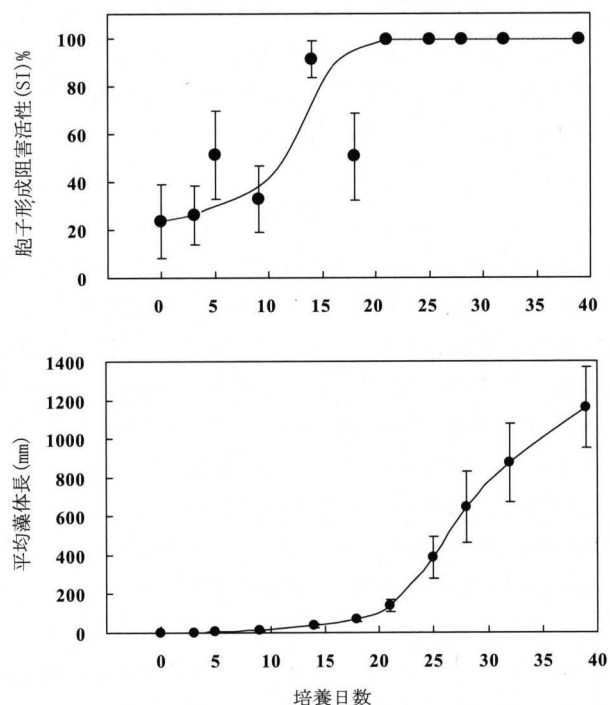


図4-8 上の図は孢子形成阻害活性(SI)(垂直の棒は標準偏差(n=25))を、下の図は平均藻体長(垂直の棒は標準偏差(n=25))を示す。藻体の培養は培養温度20℃の条件下で行われ、開始時の藻体長は0.5 mmであった。

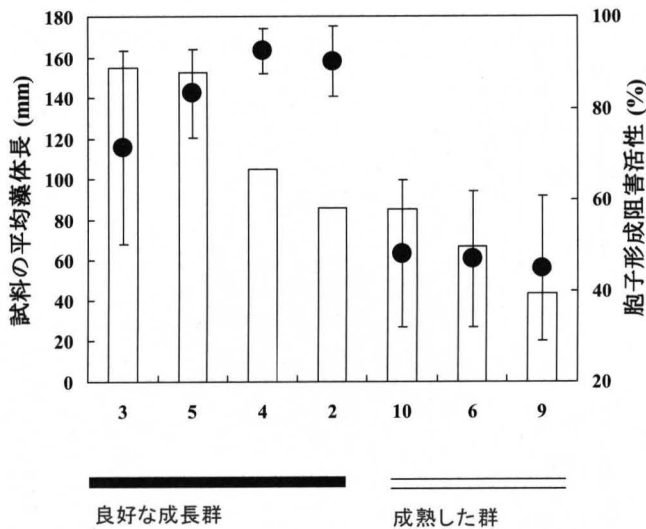


図 4-9 スジアオノリ養殖漁場から採取した良好な成長の藻体と成熟した藻体の胞子形成阻害活性 (SI) の違い。●, 胞子形成阻害活性; □, 平均藻体長。垂直の棒は標準偏差を示す。

が長いと判断した 4 網分と藻体と短いと判断した 3 網分をそれぞれ 1 つにまとめ、長い藻体群と短い藻体群とした。長い藻体群 (試料番号 3, 5, 4, 2 番) では胞子形成阻害活性が 71.4~92.5% の範囲であるのに対し、短い藻体群 (試料番号 10, 6, 9 番) では 44.9~48.0% の範囲となった。表 4-1 に 2 群の平均藻体長と胞子形成阻害活性を示した。藻体長と活性とも長い藻体群と短い藻体群との間に有意な差が認められた (Mann-Whitney の U 検定, $p<0.001$)。この結果から、順調に成長し藻体長が長くなったスジアオノリは胞子形成阻害物質を多く含み、逆に成熟が起こり藻体が短くなったものは胞子形成阻害物質の含有が少ないことが推察された。

考 察

Nordby and Hoxmark (1972), Nilsen and Nordby (1975) は, *Ulva mutabilis* 藻体が胞子形成阻害物質を常に作っており、藻体が細断されると、この物質が藻体から流出し胞子形成が引き起こされると報告している。Stratmann *et al.* (1996) は, *U. mutabilis* の胞子形成阻害物質は少なくとも 2 つの物質が存在し、1 つは糖蛋白質で、もう 1 つは非蛋白質で低分子量の物質であると報告している。Hiraoka and Enomoto (1998) は, アナアオサ *U. perutsa* で *U. mutabilis* と同様の胞子形成阻害物質が存在することを

示唆している。本研究では、藻体抽出濾過液を希釈した培地でのスジアオノリ藻体から切り出したディスクを用いた生物検定の結果、濃度依存的に胞子形成抑制効果がみられ、スジアオノリ藻体中にも胞子形成を阻害する物質が存在していることが明らかになった。

アオノリ属の成熟と生殖細胞の放出は、潮汐周期に従うという報告がある (Christie and Evans 1962, Pandey and Ohno 1985, Pringle 1986)。アオサ属についても同様の報告がある (Christie and Evans 1962)。アオサ属では、2 層細胞の間に胞子形成阻害物質を蓄積しており、潮汐による干出や波動などの物理的ストレスにより藻体に傷がつき、それが環境中に流出したり薄められたりすることによって、胞子形成が引き起こされる (Nordby 1977)。本研究でのディスクを用いた生物検定の結果、主に「管内液」に胞子形成阻害物質が多く蓄積されていることが明らかとなったが、藻体の外側にはほとんど蓄積はない結果となった。スジアオノリの管状構造を形成している細胞は 1 層の細胞であり、もし胞子形成阻害物質が細胞内で作られているのであれば管状構造の内側と外側の両方に分泌しているはずである。しかし、藻体の外側に分泌された物質は環境により短時間に薄められるため、藻体を細断せず洗浄しただけの「藻体外液」が最も活性が低く、藻体が物理的に破れない限り胞子形成阻害物質を蓄積し続ける「管内液」が最も高くなった結果は妥当であると考えられる。今回の実験では、「管内液」は完全に管状構造の内側のみの活性ではなく、細胞間にあるものも含まれていると考えられる。この細胞間にも胞子形成阻害物質が含まれていると思われる、細胞は胞子形成阻害物質を生産し細胞外へ分泌するが蓄積する機能はないと考えると、今回の結果の「管内液」が「細胞内液」よりも活性が高い理由になる。しかし、今後もう少し改善を加えた方法により胞子形成阻害物質の分布について更に検討する必要がある。

スジアオノリの成長過程で、胞子形成阻害物質はどの時期に最も多く分泌、蓄積されてゆくのかを知ることは、スジアオノリの天然での消長を理解する上で重要である。また、人工採苗に用いる母藻については胞子形成しやすくなった藻体を使うと効果的な採苗がおこなえることになる。本研究では、培養スジアオノリを一定期間ごとに採取し、藻体抽出液を作成し生物検定をおこなうことに

表 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

群	成長の良好な藻体	成熟した藻体
平均藻体長(mm)	112.4±43.8	59.1±23.1
胞子形成阻害活性 SI (%)	85.0±11.8	46.6±15.6

より、藻体長の経時的変化と孢子形成阻害物質の含有量との関係を把握した。また、培養及び抽出を藻体の成長が良好な場合と培養途中で孢子形成が起きた場合に分け、その活性の違いを把握した。この結果、スジアオノリは良好な成長をしている限り、培養後21日目に活性は極大に達した。図4-7では培養後21日以降の活性度は100%と変わらないが、この間も藻体は成長している。ディスクを利用した生物検定により孢子形成阻害物質の量を活性として推定しているため、この方法では21日以降の値はすべて100%となっている。しかし、実際の孢子形成阻害物質量は藻体の成長にともなって多少とも増大した可能性はある。図4-8では、成長過程で孢子形成を起こした場合は藻体長の推移と平行して、活性も減少する結果となった。Stratmann *et al.* (1996) は、*U. mutabilis* の培養過程で培養後の液に対し藻体片を利用した生物検定を実施し、孢子形成阻害物質量の推移を報告している。それによると孢子形成阻害物質は細胞壁が形成された時から藻体外へ排出され始め、発芽体が4~10細胞になるとき孢子形成阻害物質量が最大に達し、その後低下すると報告している。このことは、本研究の結果とやや異なるものであった。本研究では、スジアオノリの孢子形成阻害

物質は藻体が成長している間は増加するが、孢子形成が起きた場合に低下した。つまり、孢子形成阻害物質の生産分泌がある限り藻体は成長するが、何らかの原因で生産が止まり、環状構造の内側に蓄積された孢子形成阻害物質の濃度が低下すると先端部から孢子形成を起こし、その結果藻体は短くなってゆくと説明できる。この孢子形成阻害物質の濃度低下を引き起こす原因については、潮汐による波動などの物理的刺激、水温、塩分、光量などの藻体を取り巻く環境要因が影響しているものと考えられる。

また、スジアオノリの養殖藻体でも成長、成熟と孢子形成阻害活性との関係において上記の室内実験と同様の結果が示された。スジアオノリ養殖では、急激な藻体の流出のほか、生殖細胞放出後の白化藻体が製品に混じることによる品質低下が問題となっている。本研究によりスジアオノリ養殖藻体の成長、成熟に関わる孢子形成阻害活性を評価する方法を明らかにすることができたため、この手法を利用した藻体に含まれる孢子形成阻害物質の量の予測をおこなうことは、養殖生産の安定化と品質の向上に繋がることが期待できる。

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3 l三角フラスコに入れ、往復振とう機 (MULTI SHAKER MMS, 東京理化器械株式会社) 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 (團, 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 $^{\circ}\text{C}$ の恒温室内に入れ、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 5 mg/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 ± 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

ゲペ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、スライドグ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 $41.0 \pm 7.5\text{mm}$ のスジアオノリ幼葉を準備した。なお、培養条件は 20°C 、光量 $40\text{ }\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ （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°C ）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グラスを 3 枚ずつ入れ、 15°C 、光量 $40\text{ }\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ （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、スライドグラス上の 1 mm^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

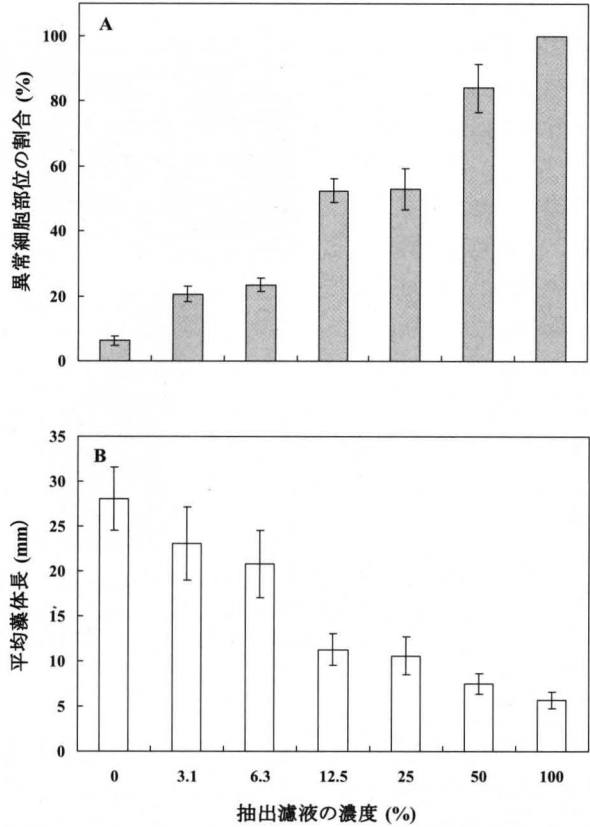


図5-2 抽出濾液中での培養後の異常部位の割合 (A) と藻体の成長 (B)。 垂直の棒は標準偏差を示している (A では $n=10$ 、B では $n=30$)。

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 $\pm$ SD (標準偏差) として示す。
仮根長の割合 (%) = 仮根長 $\times$ 100 / (藻体長 + 仮根長)

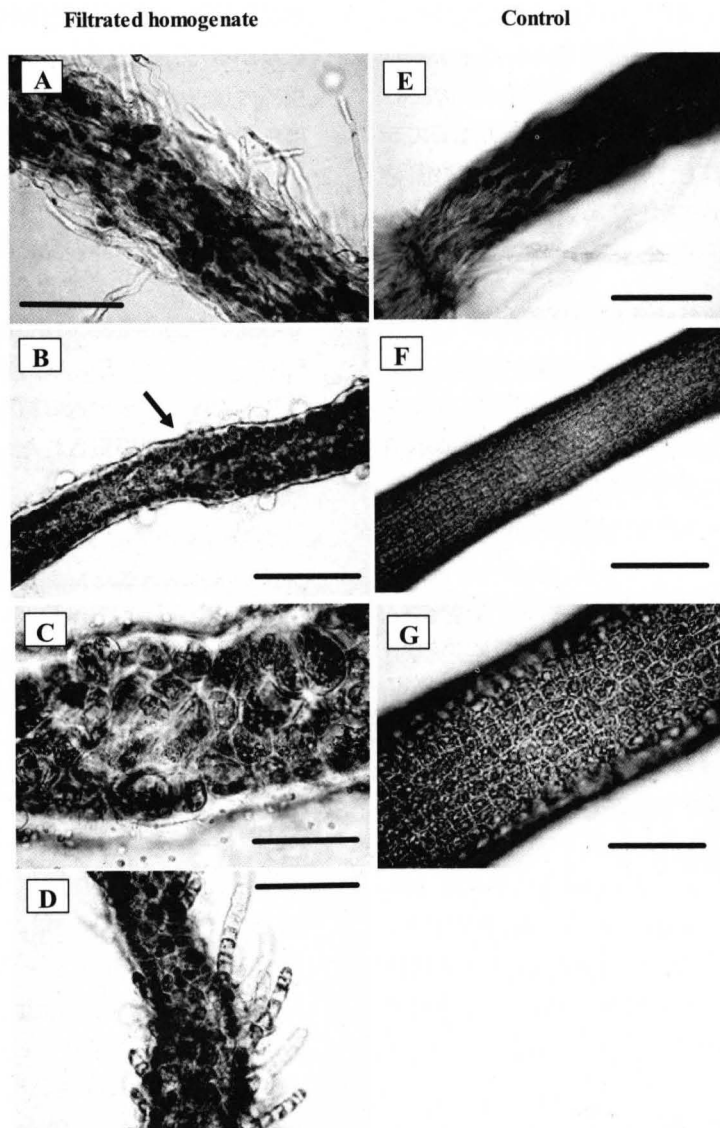


図5-1 スジアオノリ藻体の抽出濾液が発芽体(4.1 mm)の基部(A),中央部(B,C,D)における形態に与える影響。E(基部),FとG(中央部)は対象。A,B,D,E,Fの横棒は100 μm , C,Gは50 μm . Bにおける矢は、正常な細胞部位(左側)と異常細胞部位(右側)の境界を示している。

基部はアマノリ類でみられる根様系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位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、カバーグ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。

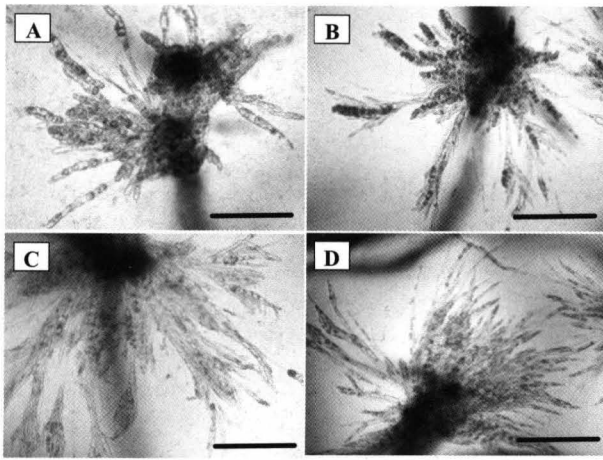


図5-3 スジアオノリ藻体の抽出濾液が発芽体(4.1 mm)の仮根部における形態に与える影響。Aは高濃度の抽出濾液(100%), B, C, Dは、それぞれ抽出濾液の濃度 50, 25, 0%を示している。横棒は 200 μ mを示している。

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。

考 察

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

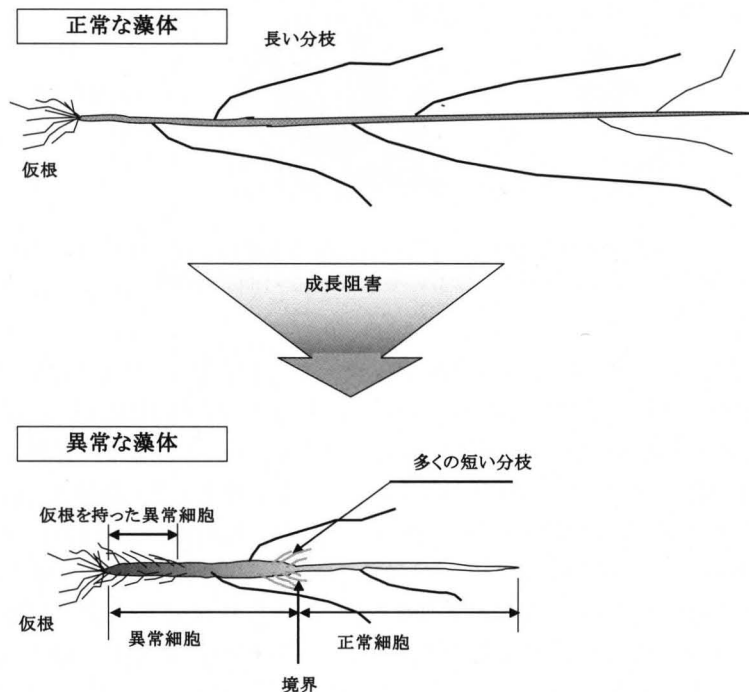


図5-5 スジアオノリ藻体の抽出濾液が初期の平均藻体長が4.1mmの発芽体の形態形成に与える影響についての模式図

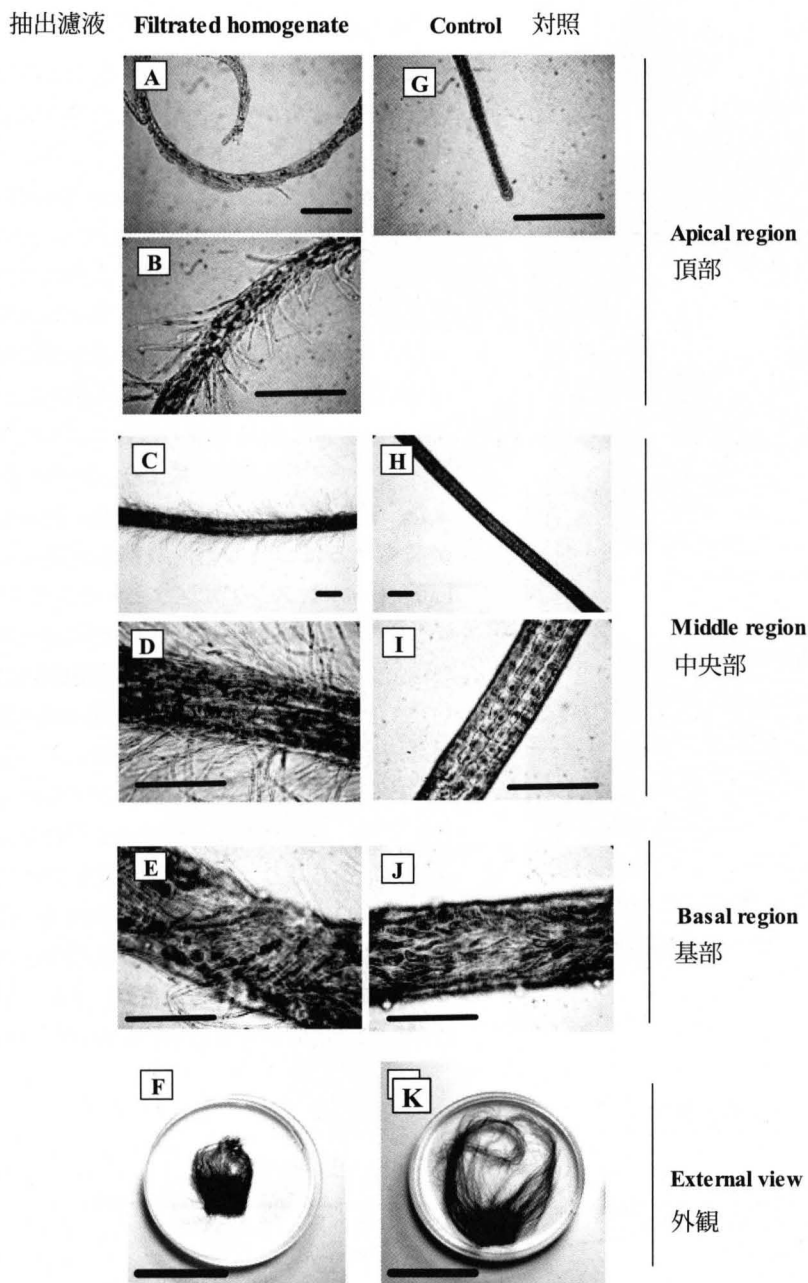


図5-4 スジアオノリ藻体の抽出濾液が幼葉(41 mm)の頂部(A, B), 中央部(C, D), 基部(E)における形態に与える影響。FとKは外観を示している。G-Kは対照。横棒は、A-E, G-Jが100 μ mを、FとKが36 mmを示している。

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ではなく、常に異常細胞部分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、これがあある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る可能性があり、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(八栖ら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の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、アオノリの耐乾性(八栖ら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 の透明なスクリュウ管瓶に入れた。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ュウ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 の海水を満たした 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℃、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℃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℃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℃の培養水中で保存した場合ということになる。20℃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℃及び 20℃での培養水中で光がある条件、または 5℃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℃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				2ヶ月保存後		4ヶ月保存後	
	温度	光	培養水	成熟率	%	成熟率	%
5	-10℃	暗	乾燥	*		*	
			水中	50		50	96
			湿潤	50		63	27
	5	暗	乾燥	*		*	
			水中	*		*	
			湿潤	*		*	
	20	明	乾燥	*		*	
			水中	8		79	0
			湿潤	46		*	
20	20	暗	乾燥	*		*	
			水中	*		*	
			湿潤	*		*	
	30	暗	乾燥	*		*	
			水中	*		*	
			湿潤	*		*	

* , 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 °C，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 °C 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 °C 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

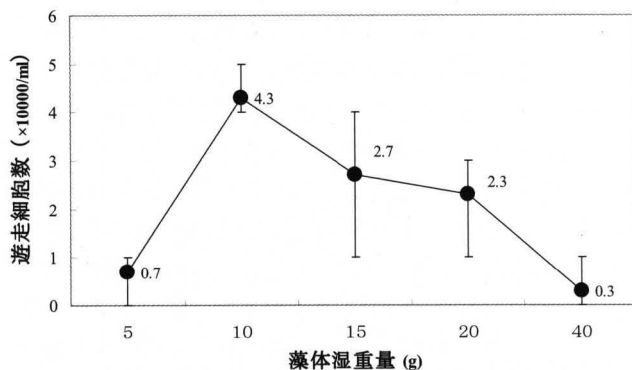


図6-1-1 藻体の湿重量と放出された遊走細胞の量との関係。黒丸(●)は、放出された遊走細胞の平均値を、垂直の棒は、最低値と最高値を示している。

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。塩分を違った実験では、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 °C とし、温度の実験は 10, 15, 20, 25, 30 °C 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 °C 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 °C 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用であるならば、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（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

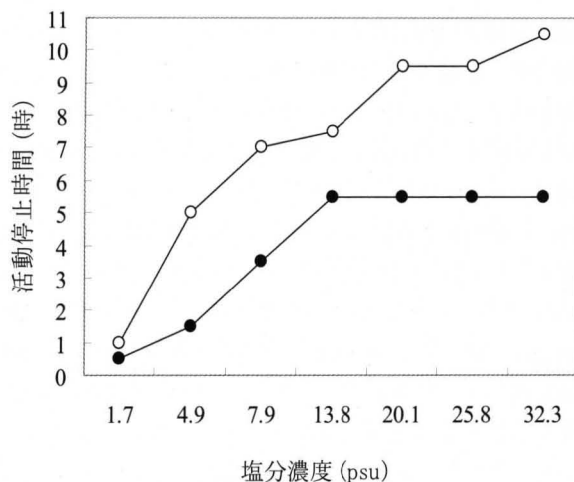


図6-1-3 塩分が、遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。黒丸（●）は、半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間、白丸（○）は、遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。

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 人工採苗における胞子着生時間の検討

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糸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。遮

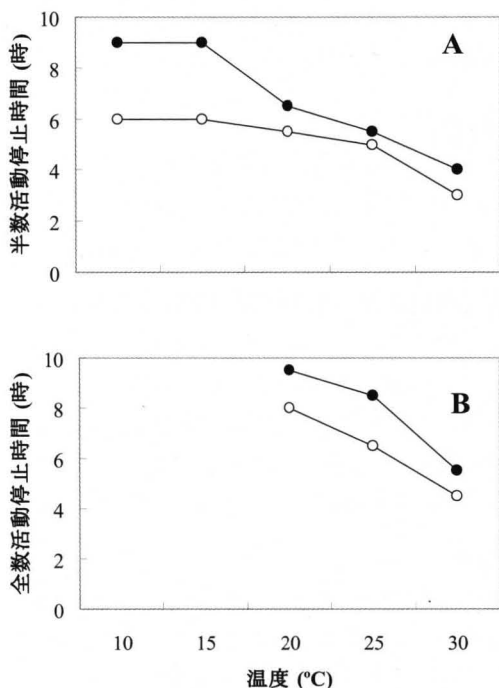


図6-1-2 光の有無と、温度が遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。A；半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間。B；遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。黒丸（●）は、暗黒条件下、白丸（○）は、光が有る条件下での数値を示す

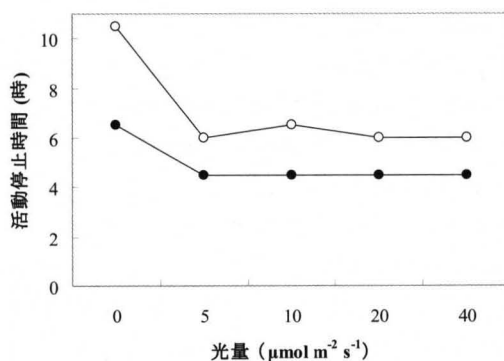


図6-1-4 光量が、遊走細胞の遊泳時間に及ぼす影響。黒丸（●）は、半数の遊走細胞が遊泳を停止した時間、白丸（○）は、遊走細胞全数が遊泳を停止した時間。

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入ったピーカーに入れ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1 cm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、1 cm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繁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。

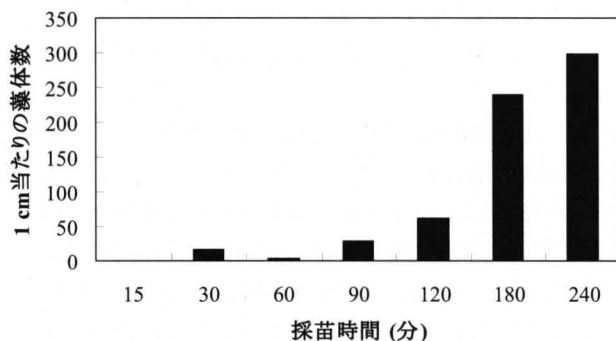


図6-1-5 採苗時間と藻体数(本数/cm)との関係

(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50 g(湿重量)をブレンダーで1～7 mm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(孢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層構造の内側に孢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時間で充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。充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 50 g（湿重量）をブレンダーで1～7 mm 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 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 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

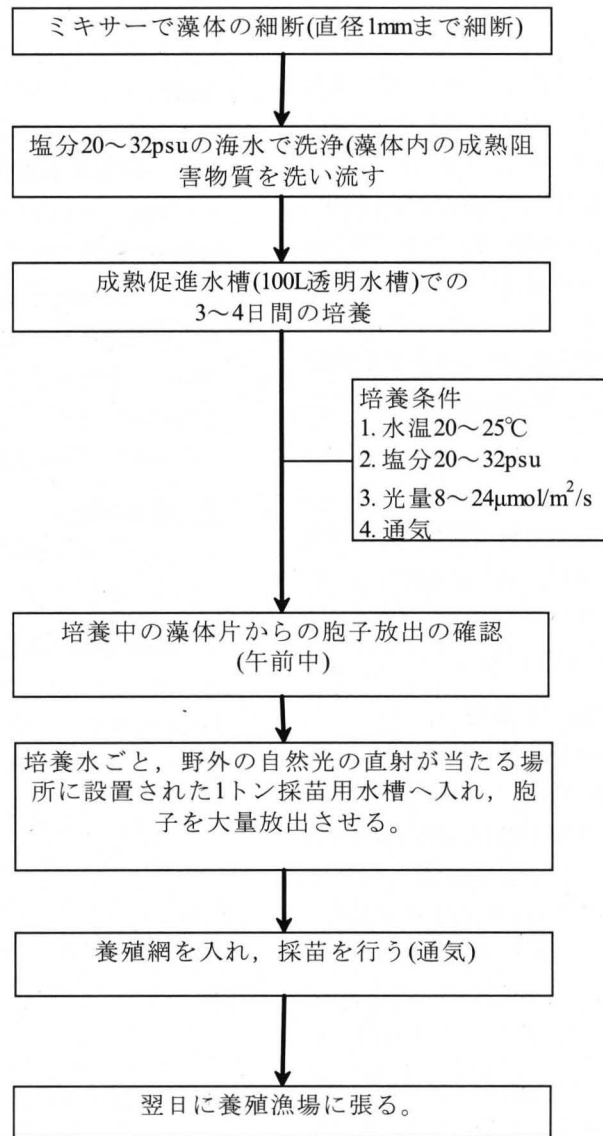


図6-1-6 スジアオノリ人工採苗のための手順（1トンの採苗水槽で養殖網10枚を採苗）

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多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、附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培地を満たした。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℃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℃、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℃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の海水を満たした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充分に放出されたので、養殖網(幅1.8, 長さ20 m)1枚を遊走細胞液の中に入れ、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の海水を満たした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9psu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、全体の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。

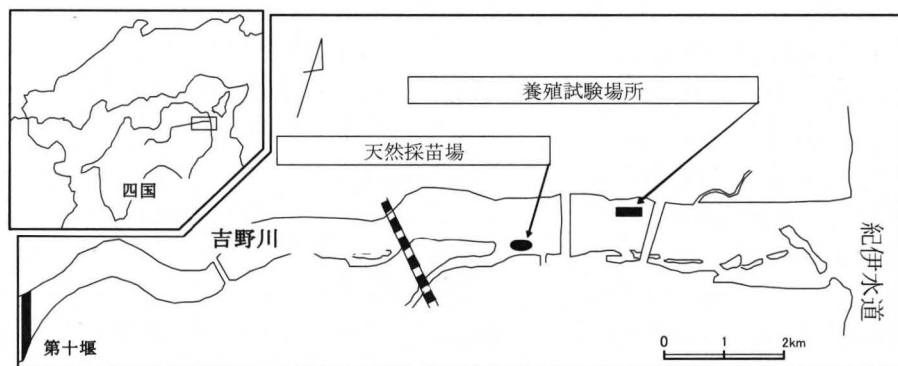


図6-1-7 吉野川河口にあるスジアオノリ養殖場と天然採苗場

結果

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未満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。

考 察

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

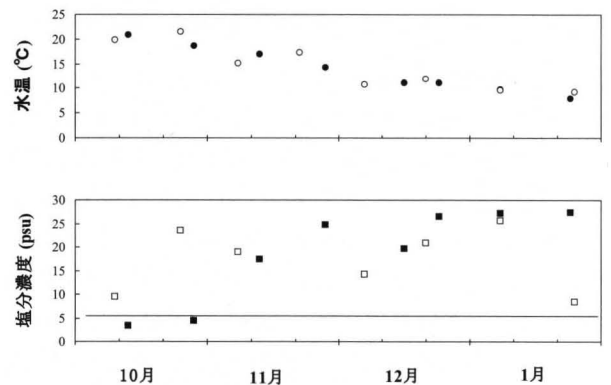


図6-1-8 1997年と1998年漁期の天然採苗場における水温と塩分の推移。○は1997年の水温を、●は1998年の水温を示す。□は1997年の塩分を、■は1998年の塩分を示した。図中の横棒は遊走細胞放出の限界塩分を示している(5psu)。

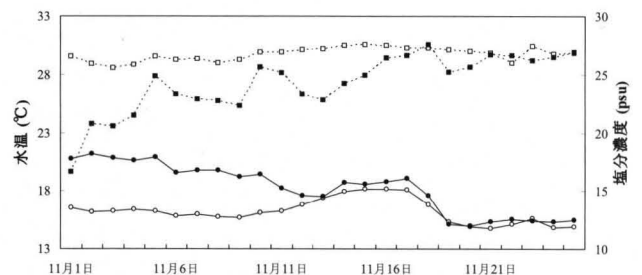


図6-1-9 1997年と1998年における、11月1日から25日までのスジアオノリ養殖場での水温と塩分の毎日の推移。○は1997年の水温を、●は1998年の水温を示す。□は1997年の塩分を、■は1998年の塩分を示した。

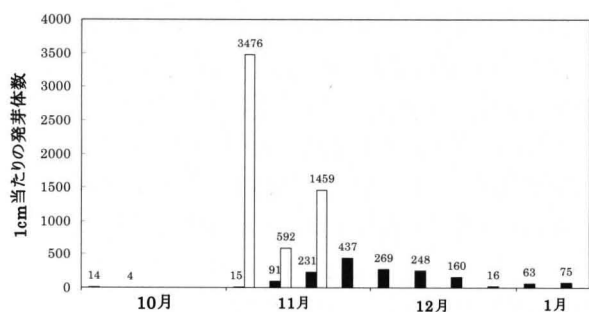


図 6-1-10 1997 年 (□) と 1998 年 (■) 漁期において、種場水域に設置された糸上のスジアオノリ発芽体数の推移。

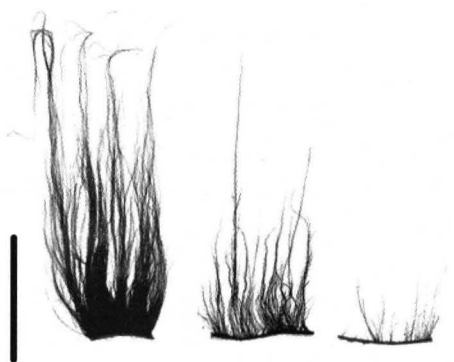


図 6-1-11 1998 年 11 月 25 日に試験養殖漁場から採集されたスジアオノリ藻体。写真左のスジアオノリ藻体は人工採苗，中央は天然採苗，右は対象を示している。垂直の棒は 10cm を示す。

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の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。

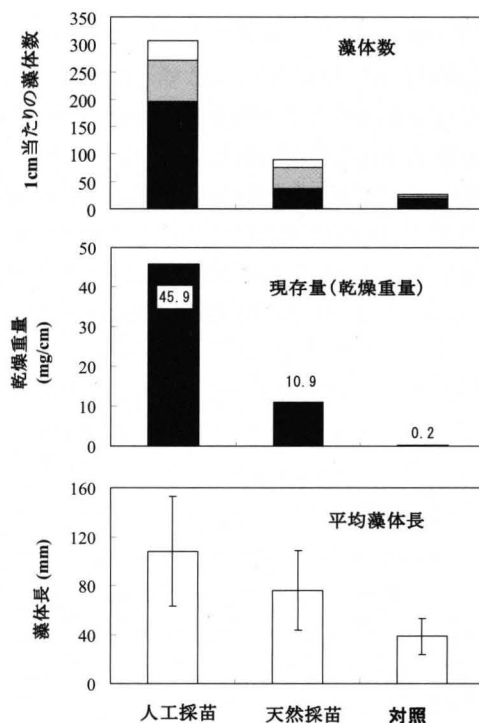


図 6-1-12 2種類の採苗方法により採苗され、20日間試験養殖された後、11月25日に採集されたスジアオノリの藻体数、現存量、藻体長。上の図で、□は 50 mm 以上の藻体数、■は 2～50 mm の藻体数、■は 2 mm 以下の藻体数。下図で、垂直の棒は標準偏差を示す(全藻体数、人工採苗 160 本、天然採苗 16 本、対照 7 本)。

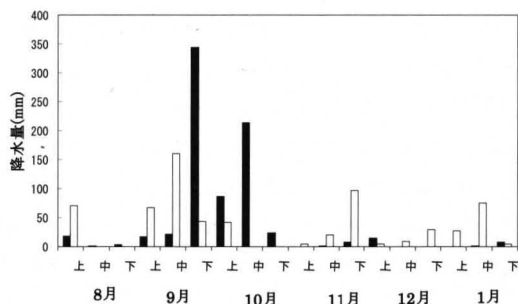


図 6-1-13 1997 年 (□) と 1998 年 (■) 漁期において、養殖漁場に近い徳島市における降水量の推移。

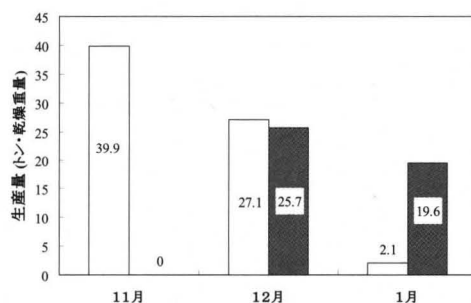


図 6-1-14 1997 年 (□) と 1998 年 (■) 漁期において、徳島県におけるスジアオノリの月別生産量の推移。

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 培地に添加して十分に混合し、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 °C、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 °C、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たした 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 °C 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 培地を満たした直径 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 培地の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 μmol m ⁻² 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/のスクリュ管ビン、36.5及び75.5 mmは50 ml/のスクリュ管ビンを用いた。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、葉体が大きいく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

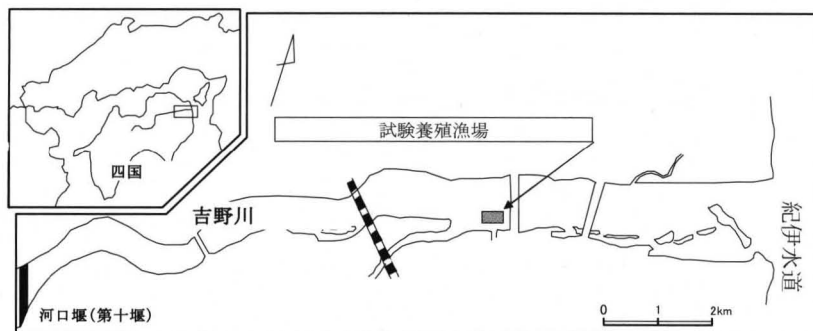


図6-2-1 徳島県吉野川河口に近い試験養殖漁場

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。

を在庫し、養殖漁場へ輸送した。このとき、在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

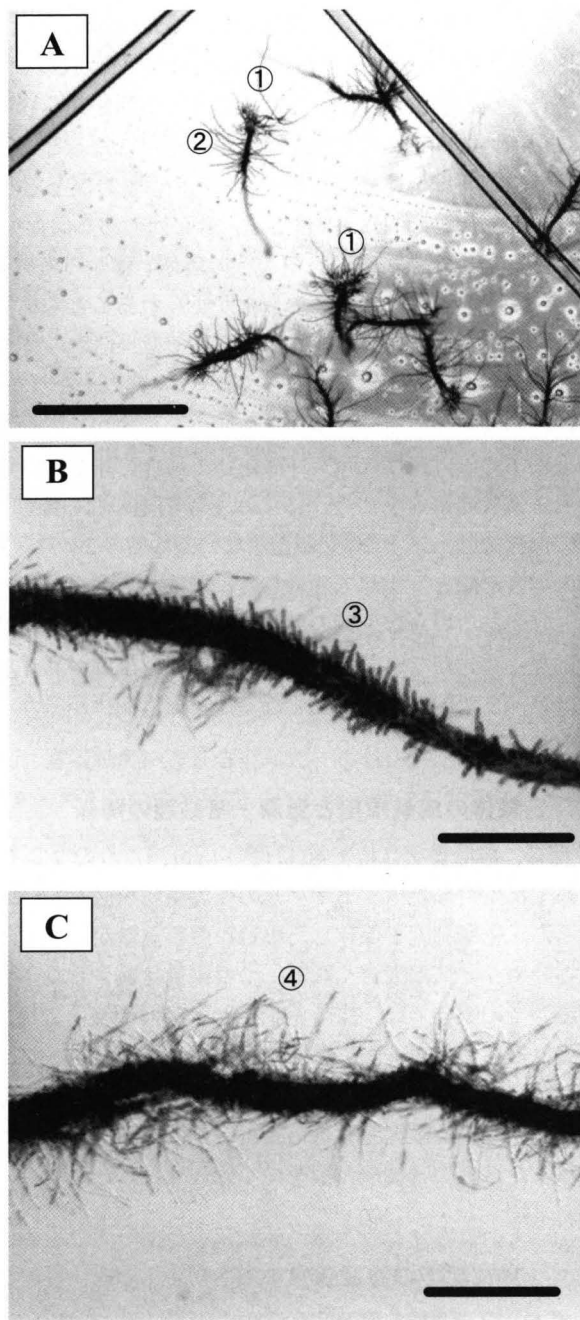


図6-2-3 冷蔵温度で保存されたスジアオノリの形態変化

A. 0℃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℃ 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化が長期間続いた。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℃ から 11℃ 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

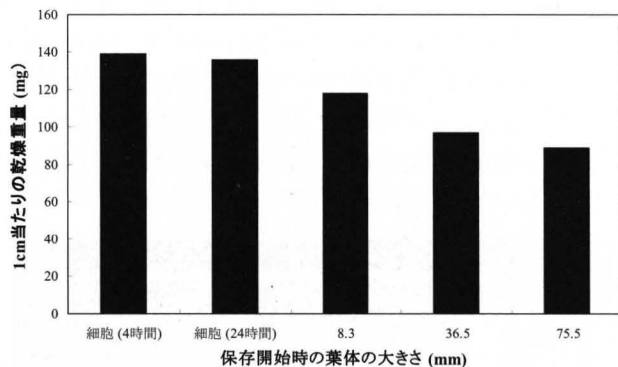


図6-2-4 低温保存の後, 再培養した糸上のスジアオノリの乾燥重量 (mg/cm) の比較。細胞 (4 時間), 細胞 (24 時間) は採苗後 4 時間, 24 時間に生殖細胞の付着した糸を保存したものを示す。

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

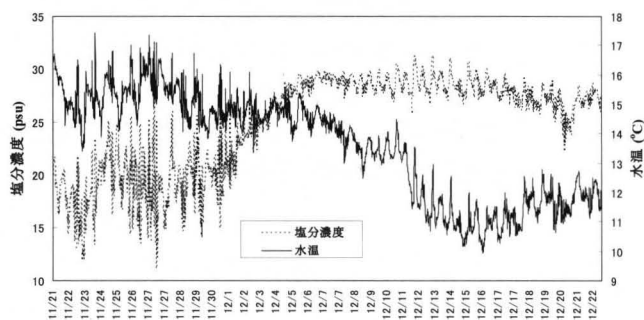


図6-2-5 吉野川の試験養殖漁場(図6-2-1)の20分ごとの水温と塩分の推移

~ 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, 64.0 mm 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 生殖細胞	対象網* ²
	1.7	3.4	15.5	64.0		
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

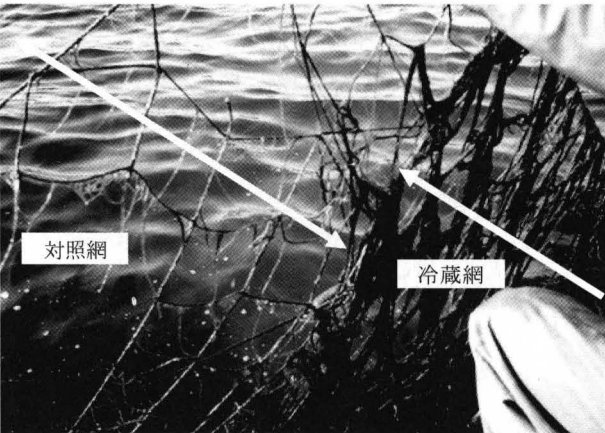


図6-2-6 冷蔵網(5℃低温保存)と対照網(何も付いていない新しい網)上のスジアオノリの成長の比較 (2001年11月29日)

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 Marsland1976)。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形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)。8μmol m⁻² 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)±S.D.* ¹	葉体数 (個体数/cm) ±S.D.* ²	乾燥重量 (mg/cm)
冷蔵網	241±93	154±14	43
対象網* ³	43±28	6±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時間の孢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。アオノリ属藻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、どの種も生存率は高く、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 Lee 1996)。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、単胞子による増芽および耐病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る期間中、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回の干潮時当たりの干出時間と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

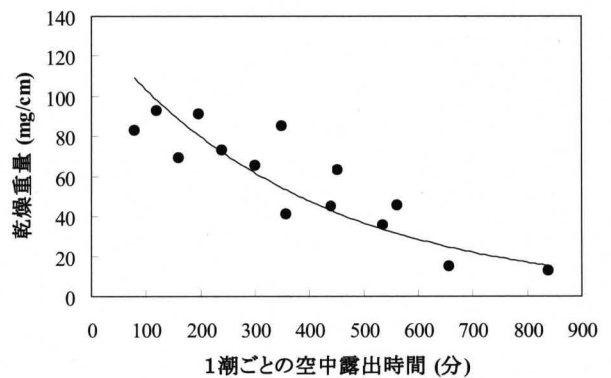


図6-3-1 1潮ごとの空中露出時間と網糸1cm上のスジアオノリの乾燥重量との関係

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。

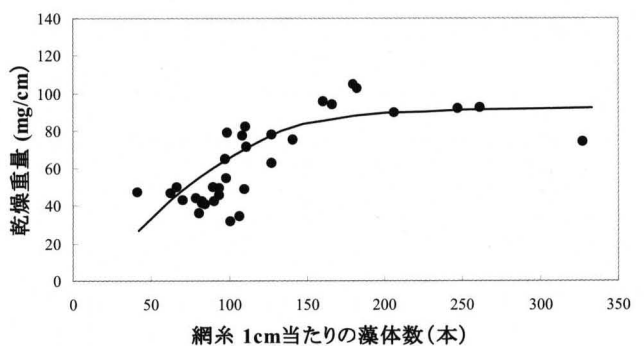


図6-3-2 網糸1cm上のスジアオノリの藻体数と乾燥重量との関係。養殖網の網糸1cm上では、乾燥重量で80から120 mgが最大の現存量であることを示している。図は、藻体数150本以上であれば、80から120 mgの最大の現存量を維持し続けることを示している。

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日まで網系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て流失した。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 Miyanoue (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 / L₀)^{1/Δt} - 1] x 100

^{*3} 収穫

第7章 アオノリ養殖技術の総括

徳島県におけるスジアオノリの人工採苗が開始されたのは1994年秋であり、本技術は年々普及している。そこで、技術開発の開始より5年経過した1999年7月時点において、本技術の評価を行い今後の研究に役立てることを目的に、1998年冬及び1999年春漁期について吉野川スジアオノリ養殖全経営体を対象に、本技術の定着度等についてアンケートを実施した。また、養殖経営体別の使用網数、生産量など吉野川におけるスジアオノリ養殖業者の基本的な実体把握も行った。なお、1998年冬漁期は、採苗時期の長雨により漁場が長期間に渡り低塩分化し、天然採苗が遅れ人工採苗の有効性が強調された年であった。

1 調査の実施方法

徳島県漁連共販に出荷している組合の中で、吉野川及びその周辺の河川（今切川、勝浦川）で生産している7漁協のスジアオノリ養殖全経営体を対象に漁業組合を通じ、アンケート用紙を配布、回収を行った。なお、周辺河川である今切川、勝浦川生産分は吉野川生産分と区分できないため合わせて集計したが、その量は無視できる数量である。アンケートは1999年7月に実施した。

2 調査結果

1) 調査対象経営体数、回答数、回収率

131経営体に対し調査票を配布した結果、51経営体が

ら回答が得られた。回収率は38.9%であった。

2) 生産量

表7-1に調査票回答者および徳島県全体（県漁連共販）の漁期別生産量を示した。また、1998年冬漁期と1999年春漁期の採苗方法別生産量割合を図7-1に示した。人工採苗による生産は、冬漁期で全体の17%、春漁期で61%となり春漁期の人工採苗の割合が高かった。これは、後に述べるが、春漁期は天然採苗が基本的に難しく、また、前年冬漁期の天然採苗が不調であったため、春漁期の人工採苗の割合の増加につながったものと思われた。

3) 使用網数

表7-2に漁期別、採苗法別の回答者全体と1経営体当たりの使用網数を示した。人工採苗に用いた網数は、冬漁期で全体の14.7%、春漁期で71%と漁期別生産量の割合に近いものであった。また、漁場全体での全使用網数を推定すると、冬漁期で55,000枚、春漁期で6,000枚となった。図7-2に、1998年冬漁期の採苗法別の1経営体が使用する網数によって分類された経営体数の割合を示した。全体の推定使用網数を経営体数で除すると、天然採苗では、冬漁期に1経営体当たり平均360枚の網を使用していることになるが、図7-2の使用網数別の経営体数割合で見ると401～600枚を使用する経営体が最も多かった。吉野川漁場では、1経営体が養殖漁場に張り込める網数は約100枚であるので、4～6回分の網の張り替えを行う経営体が多いことが分かる。人工採苗は、100枚までの小規模に行う経営体と201枚以上の大規模におこなう経営体に分かれている。これは、後ほど説明するが人工採苗を導

表7-1 1998年11月から1999年5月までの徳島県におけるスジアオノリの生産量(トン、乾燥重量)

	冬漁期	春漁期
回答者の生産量	20.4	2.7
県全体の生産量（推定値）	45.3	5.8

表7-2 1998年11月から1999年5月まで吉野川で使用された養殖網の枚数

	冬漁期	春漁期
回答者の使用した網数	21,517	2,316
天然採苗網	18,346	670
人工採苗網	3,171	1,646
1 養殖漁業者当たりの平均使用網数	518	47
天然採苗網	360	13
人工採苗網	158	34
吉野川での全使用網数（推定値）	55,000	6,000

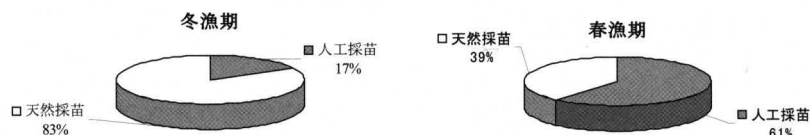


図 7-1 1998 年から 1999 年まで徳島県において、異なる 2 漁期で 2 種類の採苗方法（人工採苗と天然採苗）により生産されたスジアオノリの年生産量。 ■, 人工採苗; □, 天然採苗

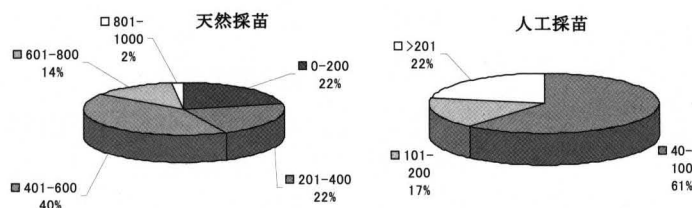


図 7-2 1998 年の冬漁期において、採苗方法別に 1 経営体当たりの使用する網数により分類した経営体数の割合

入した時期が経営体により異なっており、人工採苗に対する認識度と技術的な格差が原因と考えられた。

4) 単位収量と経営体の規模

図 7-3 は、1998 年冬漁期の 1 経営体当たりの使用網数（経営規模）とその経営体の生産量の関係を示したものであるが、経営規模が大きくなるほど生産量は増加する傾向にある。なお、収量は人工、天然の区別はしていない。冬漁期の吉野川漁場での平均収量は 400 kg（乾燥重）で

あるから、1 経営体当たり約 400～500 枚を使用すると推測される。図 7-4 に、1998 年冬漁期の 1 経営体当たりの使用網数（経営規模）と養殖網 1 枚当たりから生産される量（単位収量）の関係を示した。経営規模が拡大しても単位収量は 1 kg 前後と変わらない傾向にあるが、200 枚以下で、規模が小さくなると生産性が向上する経営体やや増える傾向にあった。また、人工と天然の採苗の違いによる単位収量の違いは無いと考えられる。

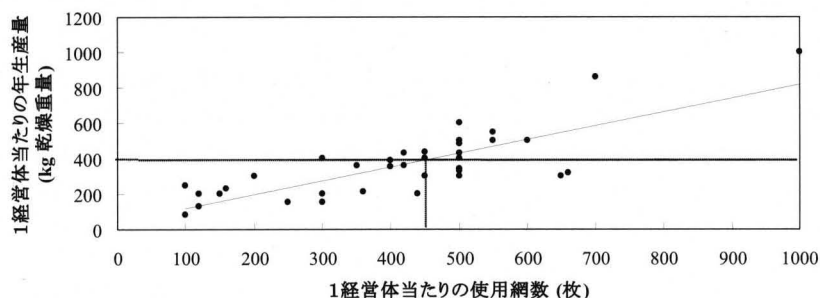


図 7-3 1998 年の冬漁期において、1 経営体当たりの使用網数（経営規模）とその経営体の年生産量の関係

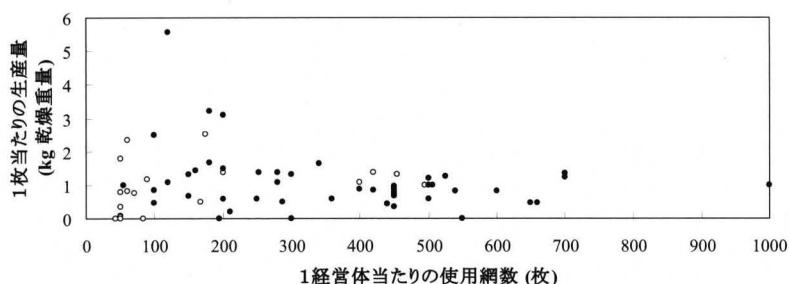


図 7-4 1998 年の冬漁期において、1 経営体当たりの使用網数（経営規模）と養殖網 1 枚当たりから生産される量（単位収量）の関係。●, 天然採苗; ○, 人工採苗

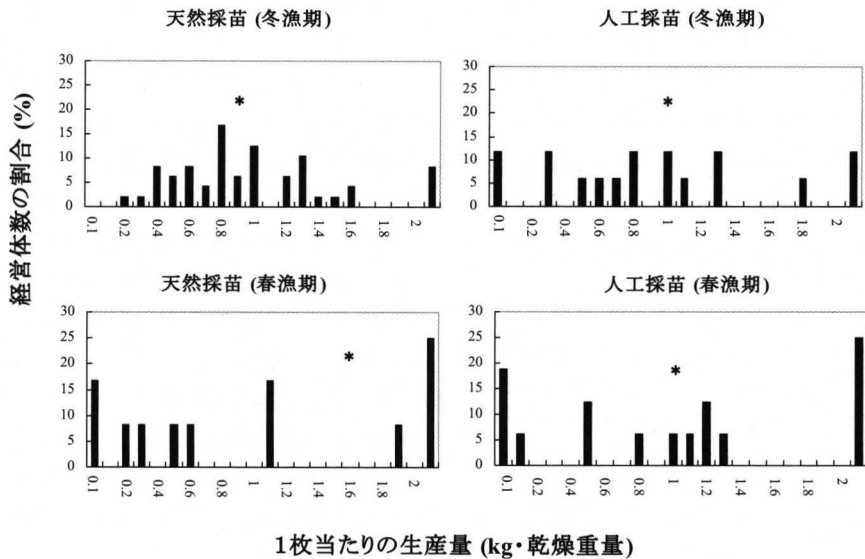


図7-5 漁期別、採苗法別の単位収量別の経営対数の割合。星印(*)は、平均単位収量を示している。

次に、単位収量別の経営体数の割合を冬漁期と春漁期別について図7-5に示した。採苗法別の漁期の全生産量を推定網数で除した平均単位収量は、冬漁期の天然採苗網では0.9 kg、人工採苗網で1.1 kg、春漁期の天然採苗網では1.6 kg、人工採苗網で1.0 kgである。単位収量別の経営体数の割合では、冬漁期の天然採苗で平均単位収量0.9 kg前後である収量の経営体の割合が多くなっている。冬漁期の天然採苗では、バラツキが少なく多くの人が1網0.9 kg前後を収穫しているということで、天然採苗では、業者間の極端な収穫量の差は少ないことが分かる。これに対し、冬漁期の人工採苗では0.3～1.3 kgの範囲に分散しており、これは人工採苗を行った経営体間で単位収量にバラツキが大きく、人工採苗の技術的格差が大きく反映しているものと思われる。

春漁期は、単位収量別の経営体割合のバラツキが天然、人工採苗とも大きく、図7-5からもそれが読みとれる。もともと春漁期の天然採苗は難しいと言われており採苗及び育苗技術の改善が求められていた。人工採苗を行うにしても、気温、水温とも春先では低いいため、条件的には厳しいものになる。この対策としては、漁期の短い春漁期は採苗、育苗期間が短縮可能な冷蔵網技術の導入が望まれる。

5) 人工採苗の有効事例

図7-6上、中、下段の図に、それぞれ1997年冬漁期天然採苗、1998年冬漁期天然採苗、1998年冬漁期人工採苗の初収穫時期の経営体数割合を示した。1997年は11月上旬を初収穫としている経営体が多いが、1998年は11月下旬～12月上旬を初収穫としている経営体が多く、1998年の初収穫の時期が遅れていることが分かる。これは、1998

年冬漁期の天然採苗時に、降雨により漁場が長期にわたり低塩分化したため、天然での胞子供給が非常に遅れたためである(第6章第1節)。1998年冬漁期の人工採苗を実施した経営体の初収穫時期は11月下旬とした経営体の割合が多く、天然採苗の場合よりも収穫時期が早く来た

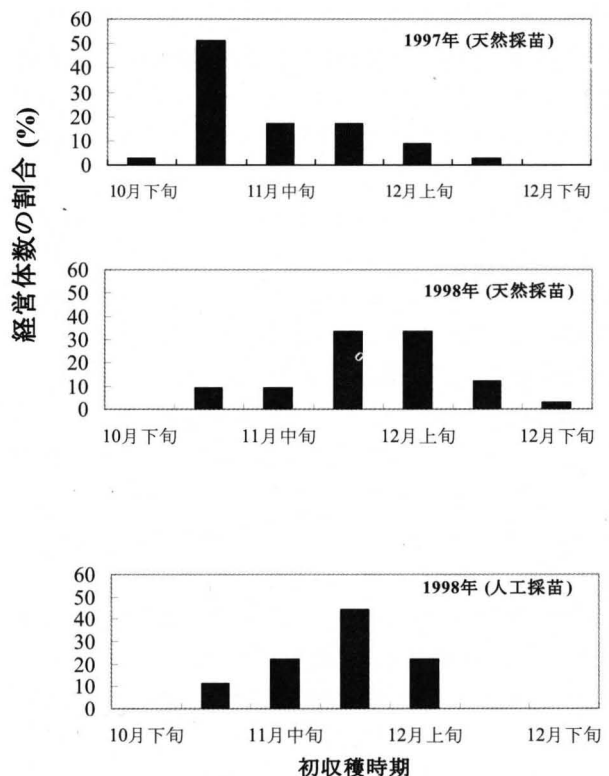


図7-6 年別、採苗法別の初収穫時期と経営体数の割合の関係。上段の図は1997年の天然採苗、中段の図は1998年の天然採苗、下段の図は1998年人工採苗を示している。

ことが分かる。徳島水研でも11月1日に人工採苗した網を漁場に張り込み、同時期に天然採苗した網と比較したところ、4.2倍の収量を上げている(第6章第1節)。このように、漁場が低塩分化し天然での胞子の供給が少ない場合は人工採苗による養殖が有効であることが実証された年であった。

6) 人工採苗した網の漁場への張り込み方法

人工採苗した網を一度種場へ移し、そこで育苗を行った後、養殖漁場へ張り込む方法と、人工採苗後、直接養殖漁場へ張り込む方法がある。なお、直接養殖漁場へ張り込む場合も、単張りで行う場合と重ね網で行い、漁場で育苗後、単張り展開する方法とがある。アンケート結果では、冬漁期で36.7%、春漁期で33.6%の人工採苗された網が直接養殖漁場へ張り込まれている。3割強の人工採苗された網が直接漁場へ張り込まれ、収穫されている。

3 アオノリ養殖技術の総括

スジアオノリの人工採苗技術の研究は團ら(1997)により1994年冬漁期から開始され、吉野川スジアオノリ養殖業者への普及は技術開発と同時に行われた。今回の調査結果では、1998年冬漁期には全体の17%、1999年春漁期には61%が人工採苗により生産されていることが分かった。しかし、養殖業者間で人工採苗技術の格差が大きく、特に「採苗に用いる母藻の確保」や「技術指導者の不足」が問題であることが分かった。今後、冬漁期に用いる母藻の供給は水産研究所、普及組織および漁業組

合の連携のもとに安定した供給体制を作る必要があるだろう。また、人工採苗導入が遅れている養殖漁業者に対しては特に講習会等の開催、現地指導などの対応が重要であろう。

1998年冬漁期は漁場が低塩分化し、胞子の供給が少なく、天然採苗が不調な年であったが、人工採苗は有効な方法であることが漁業者に対する調査結果からも証明された。1998年以後も、漁期始めに漁場の低塩分化が起こっているが、人工採苗の普及により安定した生産で推移している(第1章図1-2)。

人工採苗した網を種場(支柱柵の天然採苗場)にもって行かず直接漁場へ張り込む場合が3割強あるということは、種場の意義と利用方法を考える上で興味深い数値である。種場はシジミの好漁場でもあり漁業調整上問題のある場所である。本章の結果と育苗時の干出については必ずしも養殖管理上必要でないという第6章第3節の結果を加味すると、将来的には種場をめぐるトラブルがなくなる可能性も考えられた。

アオノリ養殖技術の普及に関する報告(團2000)の中で、人工採苗や冷蔵網などの新技術開発に対する漁業者の期待は大きく、今後とも人工採苗を実施するという回答が55%あった。また、上記の回答者のうち、「天然採苗との併用」及び「時期により人工採苗と天然採苗とを使い分ける」という回答が86%あり、天然採苗と人工採苗の効果的な活用の観点から見ると、この回答は人工採苗の利用方法を自分のものとして活用できていることを示すものであると推察された。

第8章 総合考察

本研究はスジアオノリ養殖の生産安定化技術の確立を目的におこなった。そのために、徳島県のスジアオノリ養殖生産の現状を分析し、問題点を抽出することで、今後の取り組むべき研究方向を決定した。その中で、生産の変動が大きい最大の原因は天然採苗に依存した種網供給であることが分かった。このため、人為的に採苗をおこなう方法の開発、また作成された種網を保存する方法の開発に目標を定め、研究を進めた。

本研究において、河川におけるスジアオノリの季節的消長は河川環境、特に水温と塩分の影響を受けることが明らかとなった。夏季は、高温による藻体の成熟と流出、低塩分による遊走細胞の放出の抑制により再生産がうまくゆかないため藻体が消滅し、増殖が見られないことが多い。塩分の低い年は夏季の繁茂期が短く、塩分が高い年は春から夏にかけて連続した繁茂となる傾向にある。河川の規模および構造により塩分変動の幅は異なり、安定した塩分環境である吉野川ではスジアオノリの季節消長に及ぼす影響は小さく、塩分変動の大きな日和佐川では大きく現れた。河川において、天然スジアオノリから放出される遊走細胞の量は天然藻体の現存量に比例しており、アオノリ藻体がほとんど見られない夏季には遊走細胞が放出される量は非常に少ない。10月上旬から開始される天然採苗時には、まだ肉眼視できる天然藻体が見られることはほとんどないため、この時に放出される遊走細胞の量は漁期中に比べ遙かに少ない。もし、天然採苗開始時に降雨等により漁場の塩分が5psu以下に低下した場合は、遊走細胞の放出が阻害され天然採苗がうまくいかないことが本研究により明らかになった。

四国内の4河川でのスジアオノリの生活史型が決定されたが、吉野川は2本鞭毛または4本鞭毛の遊走細胞を作り出す無性生殖をおこなうスジアオノリ株だけが生育する河川であることが判明した。これらの遊走細胞は負の走光性を持っており、藻体から放出された遊走細胞は直ちに周辺の河床に向かって泳ぎ出し、基質に附着すると考えられる。吉野川のスジアオノリがどのような生活環境の進化をとげてきたのかは本研究では明らかとすることはできなかったが、河川環境とくに塩分環境が生活環境に影響しているのではないかと推察された。即ち、安定した塩分環境下の吉野川では負の走光性を持ったクローン個体で分布を拡げるのが最も適しており、塩分変動の大きい四万十川では環境変動に適応する形として有性生殖の生活環境を持つのが最も適していると推察された。養殖に用いる種という観点から見ると吉野川のスジアオノリは、遺伝的な変異が起こりにくいので、養殖目的に合った種として保存するためには都合のよい生活環境を持っていると考えられる。

藻体を細断することで人為的に栄養細胞を孢子嚢へ分化させ、遊走細胞を放出させることは、アオサ類では海外および国内で報告があった。しかし、スジアオノリの細断により成熟誘導がおこなえることを発見し、人工採苗に応用したのは本研究が初めてである。アオノリ類は、潮汐に従った成熟周期を持っているため、その周期にあわせて採苗する方法もあるが、一度に大量の遊走細胞を得ることはできない。また、計画的に採苗を実施することができない。しかし、本研究により開発された人工採苗技術によると細断後2～3日で生殖細胞を形成し、放出させることができる。成熟誘導のための最適な細断片のサイズ、細断片の培養温度、塩分、光量が調べられ、それぞれ0.9mm、20～25℃、13.2～45.3psu、 $16\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ 以上であることが分かった。

天然でのスジアオノリの消長や人為的成熟誘導をおこなうに当たり、スジアオノリの成熟機構を知ることは重要である。本研究では、スジアオノリの小さな細断片を利用したバイオアッセイをおこなった。この結果、アオサ類で報告されている成熟阻害物質と似た機能を持つ物質がスジアオノリ藻体にも存在することが明らかになり、さらに、管状構造をしている内側に最も多く存在することが判明した。天然での藻体は潮汐などによる波動、干出などの物理的力により藻体に影響を受けやすい大潮時に成熟個体が多いことや、アオノリ養殖において水面直下に張り込まれた藻体は成熟が起こり、成長がみられない現象は、成熟阻害物質が藻体から流出する、または藻体内の濃度が低下することによって成熟が開始されるためであると説明できる。このため、人為的に藻体を細断する手法は、成熟阻害物質を効果的に流出させ、成熟を誘導するための方法であると言える。細長い紐状の形態を示すスジアオノリ藻体は、軸に沿って成熟阻害物質の濃度勾配が存在し、先端部にゆくほど濃度が薄くなっていることが本研究で示唆されており、スジアオノリ藻体の成熟が先端部から起こるのはこのためであると説明できる。また、本研究において、成熟成阻害物質は藻体の成長とともに生産蓄積されてゆくが、何らかの原因により濃度が低下した場合には成熟が起こることが明らかとなった。養殖漁場から採取してきた養殖スジアオノリ藻体の成熟成阻害物質量は、長い藻体長の群と短い藻体長の群の間に有意の差が認められた。このため、藻体に含まれる成熟阻害物質量を把握することは、藻体が流出する前に収穫することによる養殖生産の安定化技術の開発や遊走細胞放出後の白化藻体が製品に混じることによる品質の低下を防ぐための技術に繋がる。

スジアオノリ藻体には成熟阻害だけでなくスジアオノリの形態形成に影響を及ぼす物質も含まれていることが明らかとなった。このことについては、アオサ類では報告されていない。この物質は、藻体の成長を抑制し、通

常、仮根を持たない細胞まで仮根分化を誘導する。また、新しい分枝を増加させる働きも持っている。スジアオノリの遊走細胞を小さな容器内に多量に入れると、発芽後に微小な大きさのままで成長が止まっていることが観察される。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成長が抑制されている可能性が高いと考えられた。仮根分化を効果的に誘導し、スジアオノリ組織片を養殖網に附着させる技術や一度収穫した養殖網に残った藻体から多くの分枝を形成させ再度種網にする技術など、今後、この物質の作用を利用した新しいスジアオノリ養殖方法の開発が期待される。

1998年冬漁期に吉野川スジアオノリ養殖漁場において人工採苗と天然採苗の比較養殖試験が実施された。この年は、採苗期に増水し漁場の塩分が非常に低下したため天然での遊走細胞の供給がほとんど無かった。このため、人工採苗と天然採苗との差が非常に大きく現れ、養殖漁業者における有効性が十分理解できた年であった。このように、人工採苗はスジアオノリ養殖生産の安定をもたらす優れた方法であるが、従来の天然採苗が完全に無くなるというものではない。天然採苗は一度に大量の採苗が可能で、漁場環境が整った場合には優れた方法である。人工採苗は、上記のように漁場環境が天然採苗に適さない時に有効である。もう一つの優れた点としては、品種が開発された場合には人工採苗でしか採苗できないという点にある。両採苗法とも優れた特徴を持っているので、今後はその時の状況、目的に応じ使い分けてゆくことが重要である。

スジアオノリの種網の冷蔵保存法は、採苗直後の生殖細胞、体長1.7mmまたは3.4mmの幼葉が着生している養殖網をビニール袋に密封し、暗黒で5℃の冷蔵温度で保存するものである。培養水に漬ける必要もなく、湿潤状態で網を束ねて保存できるため大きな保存空間も必要としないのでアマノリ類の冷蔵網保存技術に近い実用的な技術である。また、入庫に使う種網は天然採苗されたものでも可能であり、吉野川の養殖漁業者の間に種網保存用の冷蔵庫の導入が進んでいることも、この技術の有効性を示すものである。スジアオノリ種網の冷蔵保存技術は、アマノリ類の冷蔵網技術をモデルに開発をおこなったが、非常に短期間に機能的に近い技術が完成できたと考えている。

本研究において開発されたスジアオノリの生産安定化のための技術を、1999年に徳島県のスジアオノリ養殖漁業者にアンケートを実施したところ、人工採苗や冷蔵網などの新技術開発に対する期待は大きく、今後とも人工採苗を実施するという回答が55%あった。また、現在人工採苗をおこなっている人のうち86%の人が天然採苗と人工採苗を併用するか時期により使い分けると回答しており、人工採苗の使い方を正しく理解し、また彼ら自身により自分達に合った方法に改良していることが窺われた。本年は、人工採苗技術が開発、普及されてから9年目を迎えているが、徳島県のスジアオノリ養殖漁場においてはごくあたりまえの技術になったと思える。さらに、徳島以外の地域で本技術の導入の動きも見られ、筆者はこれらの技術が吉野川の漁業者だけでなく全国の養殖漁場に普及、定着してゆくものと期待している。

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

**Physiological and ecological studies on *Enteromorpha prolifera*
(Müller) J. Agardh and its applications for cultivation**

Akinori DAN

Summary The green alga *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardh is an important edible seaweed which grows in calm estuaries around western Japan. However, wild stocks of this species have recently decreased due to water pollution. Cultivated materials are now responsible for almost all of the processed *Enteromorpha*. Tokushima Prefecture forms the highest production area in Japan with an annual production of 60-70 tons (dry weight). However, there are some problems regarding the *Enteromorpha* cultivation in the Yoshino River estuary in Tokushima Prefecture and the biggest problem is the unstable natural seeding which depends on the swarms discharged from wild plants. Therefore, the annual production of *Enteromorpha* in the Yoshino River has sometimes fluctuated due to the variability in natural seeding. This research has aimed at the establishment of the technology to stabilize *Enteromorpha* production.

The distribution and growing period of *Enteromorpha prolifera* in two rivers (Yoshino River and Hiwasa River) which have different river scales (large river 193 km and small river 20 km in length, respectively) in Shikoku Island were investigated from April, 2000 to May, 2002. The biomass of *Enteromorpha prolifera* increased from winter to spring and decreased or disappeared in summer. Based on the survey results, the growing period was separated into two periods (winter and spring) depending on the survey station and year. These results indicated that the separation of growing period and the length of growing period were influenced by the salinity environment in the river. As the salinity in the river increases in years with a low amount of rainfall, the growing period continues from winter to spring and occasionally tends to extend until the summer. The growing period in the Yoshino River (Tokushima Prefecture) which has a large river scale tends to continue from winter to spring because of the stable salinity environment. The growing period in the Hiwasa River (Tokushima Prefecture) which has a small river scale, however, clearly separated into two periods. It was reported that the growing period in the Shimanto River (Kochi Prefecture) is separated clearly (Ohno and Miyano 1980, Ohno and Takahashi 1988). It is suggested that this phenomenon is because the Shimanto River has a large fluctuation of salinity in spite of having a large river scale.

Thalli of *E. prolifera* were collected from four rivers (Yoshino River, Hiwasa River, Niyodo River and Shimanto River) on Shikoku Island and some experiments were conducted for the determination of their life history, viz. determination of the number of flagella of swarms released from thallus, initiating cultures, crossing tests, phototaxis experiments and microspectrophotometric analysis of DNA in the nuclei of the swarmer, and vegetative cells. As a result, it was found that populations of *E. prolifera* in the four rivers had three different types of life history. One type was the typical sexual life history of *Enteromorpha*, which is isomorphic, with biflagellate gametes or quadriflagellate zoospores from the Hiwasa River and Shimanto River. The second type was an asexual life history involving biflagellate zoospores from the Yoshino River, Hiwasa River and Niyodo River. The third type was an asexual life history reproducing by quadriflagellate zoospores from the Yoshino River and Niyodo River.

To induce the reproductive cells in disks excised from the fronds of *E. prolifera* and to establish a method of artificial seeding, the optimum conditions such as the size of tissue disks, temperature, salinity and photon fluence rate were investigated under the following experimental conditions: 0.9, 2.1, 3.0, 3.6, 4.5, 9.0 mm in diameter (size of tissue disks); 5, 10, 15, 20, 25, 30 °C (temperature); 0, 1.6, 3.3, 5.0, 6.6, 13.2, 19.9, 26.3, 32.1, 39.4, 45.3, 52.0, 59.4, 66.3 psu (salinity); 0, 4, 8, 16, 24, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (photon fluence rate). Smaller tissue disks were found to induce a higher degree of reproductive cell formation. Tissue disks of 0.9 mm in diameter gave the best performance on maturation of reproductive cells. The optimum culture conditions for maturation were at a temperature of 20 to 25 °C and a photon fluence rate higher than 16 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$. It was considered that a low photon fluence rate of 16 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ did not cause a problem for

maturation because the subsequent artificial seeding was carried out in the outdoors. The optimum salinity for maturation of reproductive cells was between 5.0 and 52.0 psu, and between 13.2 and 45.3 psu for swarmer release. The optimum conditions for swarmer release had a narrower salinity range than that for maturation. The phase of swarmer release followed that of reproductive maturation under suitable conditions. However, in extreme salinity conditions, the phase of reproductive maturation was not completed by the discharge of swarmers.

To obtain seedling production using the tissue cultured fragments, the optimum conditions of tissue disk size, temperature, salinity and photon fluence rate for the rhizoid formation of the tissue disks excised from fronds of *E. prolifera* were investigated. A high degree of rhizoid development was observed at the size of disk of more than 0.9 mm in diameter. Rhizoid production in very small disk sizes was not observed because reproductive maturation and swarmer release advanced rapidly and all of the vegetative cells become reproductive. The degree of rhizoid formation was high at temperatures equal to or less than 15°C and a salinity range of 1.6 to 52.0 psu, photon fluence rate of 8 to 160 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$.

For investigation of the fluctuation of the wild biomass and for inducing the vegetative cells to form reproductive cells, it is necessary to clarify the reproductive maturation mechanism of *E. prolifera*. The fronds of *E. prolifera* were homogenized and then dissolved in autoclaved seawater. The solution was filtered using membrane filters. The filtered solution was diluted to several concentrations with autoclaved seawater. Small tissue fragments excised from *E. prolifera* were incubated in above solutions for 3 days. Thereafter, the area of maturation in the tissue fragments was measured. It was found that the higher concentration of filtered solution made the area of maturation in the tissue fragment smaller. These results indicated the presence of a maturation inhibitor in the frond of *E. prolifera*. Furthermore, where the highest concentration of sporulation inhibitor is contained in the part of *Enteromorpha* frond, when the sporulation inhibitor is produced in the process of growth was investigated by biological assay using the small tissue fragments of *E. prolifera*. These results indicate that the main sporulation inhibitor is contained in the whole lumen of the tubular frond. It is considered when the frond is physically injured or cut into small fragments, maturation occurs because the sporulation inhibitor which is accumulated in the whole lumen of the tubular frond leaks out. The production of the sporulation inhibitor increased during the growth periods, but decreased when sporulation occurred. Judging from the above, it is considered that sporulation is caused when the concentration of the sporulation inhibitor in the lumen of frond decreases due to some reasons such as physical stimulation of wave motion, desiccation, and rapid changes of water temperature, salinity, irradiance around the frond.

The effect of the solution extracted from *Enteromorpha prolifera* on their early morphological development was investigated. Some developmental stages of *E. prolifera*, reproductive cell, germling, young plant, were incubated in the medium containing the extracted solution which was filtered from homogenized vegetative fronds of the same species. The filtered solution suppressed the growth of germlings and promoted the increase of the number of cells having rhizoids and new branches. These results can be applied to the technique to induce rhizoids effectively by incubating fragments in the extracted solution and obtain the production of seedlings of *Enteromorpha*. Moreover, if the fronds on the culture net after harvesting can be incubated in the extracted solution and induce numerous branches, it is possible to use it as a seedling culture net again.

Details of the studies which were necessary to allow the development of artificial seeding of *E. prolifera* were investigated as follows. In the optimum storage conditions, the fronds for artificial seeding of *E. prolifera* could be stored for 4 months in moist conditions at 5°C without illumination. The relationship between the frond weight for artificial seeding and the amount of discharged swarmers was investigated. More than 100 g of fronds per 100 l of medium inhibited the sporulation and the discharge of swarmers. Higher temperature and lower salinity made the swimming time of discharged swarmers shorter. The swimming time of discharged swarmers became constant at 5-6 hours at an irradiance of equal to or more than 5 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ of photon fluence rate. Adhesion of swarmers to the substratum was not observed within two hours from the start of the discharge swarmers, but the amount of adhesion increased beyond three hours. It was found that the artificial seeding needs at least equal to or more than 3 hours.

A field cultivation experiment of *E. prolifera* using two seeding techniques (artificial seeding, natural seeding) was carried out in the Yoshino *Enteromorpha* cultivation ground. When low salinities of 3.3-4.3 psu reduce the quantity of

swarmers liberated from the wild plants in the spore-collection ground, natural seeding was not able to be carried out. However, *E. prolifera* on the artificial seeding culture nets grew successfully and could be harvested. It was confirmed that the artificial seeding method is effective when the quantity of swarmers liberated from the wild plants was decreased due to some reason.

The survival conditions of young *Enteromorpha* were investigated to establish a low temperature storage method for its culture nets. In the optimum storage conditions, seeded culture nets can be stored for 6 months under the conditions of 5-10°C without illumination (dark treatment). In this case, a storage medium is not necessary when kept in moist conditions and smaller sized fronds were found to show better survival and growth after storage. To confirm these laboratory results, a field experiment was carried out using the low temperature storage culture nets in the *Enteromorpha* cultivation ground of Yoshino River. The culture nets with young *Enteromorpha* (reproductive cells after seeding and thalli of 1.7, 3.4, 15.5, 64.0 mm lengths) were put into vinyl bags, sealed up and kept for 41-49 days in a refrigerator at 5°C. As a result of the cultivation examination, reproductive cells and young thalli of 1.7, 3.4 mm length on the culture net grew successfully, but the larger sized thalli showed no growth. Based on the above results, we are able to show the optimum storage method of culture nets for *E. prolifera*.

To confirm the necessity of a desiccating operation during culture in the natural spore-collection ground, the relationship between the number of fronds of *E. prolifera* on a culture net and the standing crop was investigated. It was found that the increase of number of fronds did not influence the standing crop because the standing crop reached a maximum and remained constant when the frond numbers per 1 cm were equal to or more than 150. Based on above results, it was concluded desiccating operation which reduce the number of excessive fronds is not needed.

The suitable culture depth of water for the *Enteromorpha* cultivation was investigated in the Yoshino River. Successful growth of *E. prolifera* was observed at depths of 30-90 cm. These results indicated that the growth of *E. prolifera* declines due to the influence of muddiness at depths greater than 90 cm.

Artificial seeding technique of *E. prolifera* was created in Tokushima Prefecture Fisheries Research Institute in 1994, and this technique started to be used by the *Enteromorpha* cultivators in the Yoshino River in the same year. In 1999 after 5 years, a questionnaire was carried out to the *Enteromorpha* cultivators in Tokushima Prefecture in order to evaluate this technique and make use of further research. As a result, the rates of production by artificial seeding to the total amount of production were 17-61%. There was almost no difference in the amount of crop per culture net of artificial seeding compared with that of natural seeding. Furthermore, 55% of the respondents answered that they were going to carry out artificial seeding from now on. This result shows that the artificial seeding method has become established for many cultivators.

文 献

- 新崎盛敏. 1946. 青海苔 (水産食糧増産叢書). 東京, 霞ヶ関書房. 77 p.
- 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.
- 新崎盛敏. 1957. アオノリ類駆除と病気に対する問題点. 水産増殖, **4**(4): 74-78.
- Bliding, C. 1963. A critical survey of European taxa in Ulvales. Part I. *Capsosiphon*, *Percursaria*, *Blidingia*, *Enteromorpha*. *Opera Botanica a Societate Boabuca Lundensi*, **8**: 1-160.
- Burrows, E. M. 1991. *Seaweeds of the British Isles. Vol. 2, Chlorophyta*. London, National History Museum Publications. 238 p.
- Christie, A. O. and Evans, L. V. 1962. Periodicity in the liberation of gametes and zoospores of *Enteromorpha intestinalis* Link. *Nature*, **193**: 193-194.
- 團 昭紀. 1994. 吉野川におけるスジアオノリ養殖の現状と課題について. 平成4年度徳島水試事報: 73-78.
- 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.
- 團 昭紀. 2000. 徳島県吉野川漁場でのスジアオノリ養殖における人工採苗技術の評価. 瀬戸内海区ブロック藻類研究会誌, **2**: 4-12.
- 團 昭紀, 高木俊祐, 大野正夫. 2001. アオノリ養殖における2種の採苗法による成長とその利用. 水産増殖, **49**(3): 293-297.
- Dan, A., Hiraoka, M., Ohno M. and Critchley, A. T. 2002. Observations on the effect of salinity and photon fluence rate on the induction of sporulation and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Agardth (Chlorophyta, Ulvales). *Fisheries Sci.*, **68**(6): 1182-1188.
- 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. 2003. 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. 2003. 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.
- Dan, A., Hiraoka, M., Ohno, M. and Notoya M. 2004. Activity of a sporulation inhibitor in the green alga, *Enteromorpha prolifera*. *Jpn. J. Phycol.*, **52**: 79-82.
- Eaton, J. W., Brown, J. G. and Round, F. E. 1966. Some observations on polarity and regeneration in *Enteromorpha*. *Br. Phycol.*, **3**: 53-62.
- 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.
- Fletcher, R. L. and Callow, M. E. 1992. The settlement, attachment and establishment of marine algal spores. *Br. Phycol.*, **27**: 303-329.
- 藤井義晴. 2000. アレロパシー多感物質の作用と利用. 東京, 農文協. pp. 23-27.
- Hiraoka, M. and Enomoto, S. 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.
- 平岡雅規. 2000. 日本産アオサ属における人為的成熟誘導と系統分類に関する研究. 愛媛連合大学院学術博士論文. 113 p.
- Hiraoka, M., Dan, A., Shimada, S., Hagihira, M., Migita, M. and Ohno, M. 2003. Different life histories of *Enteromorpha prolifera* (Ulvales, Chlorophyta) from four rivers on Shikoku Island, Japan. *Phycologia*, **42**(3): 275-284.
- Hiraoka, M., Ohno, M., Dan, A. and N. Oka, N. 2004. Utilization of deep seawater for the mariculture of seaweeds in Japan. *Jpn. J. Phycol.*, **52**: 215-219.
- 平田淳一. 2000. アオノリ漁場調査. 平成12年度千葉県内水試事報: 22-23.
- Htun, U. S., Ohno, M. and Mizuta, S. 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.
- Kapraun, D. F. 1970. Field and cultural studies of *Ulva* and *Enteromorpha* in the vicinity of Port Aransas, Texas. *Contributions in Marine Science*, **15**: 205-285.
- 加藤 孝. 1953. 新町川漁場に於けるノリ附着層に就いて. 昭和25年徳島水試事報: 22-25.

- 河本良彦, 門永圭史. 1988. スジアオノリ養殖試験. 山口県内海水試事報, **16**: 54-58.
- 河本良彦, 門永圭史. 1990a. スジアオノリ養殖試験. 山口県内海水試事報, **18**: 23-28.
- 河本良彦, 門永圭史. 1990b. スジアオノリ養殖試験. 山口県内海水試事報, **17**: 51-56.
- Kim, K. Y., Ahn, Y. S. and Lee, I. K. 1991. Growth and morphology of *Enteromorpha linza* (L.) J. Ag. and *E. prolifera* (Müller) J. Ag. (Ulvaes, Chlorophyceae). *Korean J. Phycol.*, **6**: 31-45.
- Kim, K. Y. and Lee, I. K. 1996. The germling of *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) in laboratory culture under different combinations of irradiance and salinity and temperature and salinity. *Phycologia*, **35**: 327-331.
- 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.
- Koeman, R. P. T. and van den Hoek, C. 1982a. The taxonomy of *Enteromorpha* Link, 1820, (Chlorophyceae) in the Netherlands. The section *Enteromorpha*. *Algological Studies*, **32**: 279-330.
- Koeman, R. P. T. and van den Hoek, C. 1982b. The taxonomy of *Enteromorpha* Link, 1820, (Chlorophyceae) in Netherlands. The section *Proliferae*. *Cryptogamie: Algologie*, **3**: 37-70.
- 小松清二, 石田 豊, 川嶋之雄, 徳田 廣. 1994. スジアオノリによる二酸化炭素固定. 水産増殖, **42**(4): 515-520.
- 倉掛武雄. 1969. 海苔網冷蔵の手引き. 東京, 全海苔漁連. 82 p.
- Lee T. F. and Wichroski, M. 1996. Polar regeneration in *Enteromorpha prolifera*. *J. Phycol.*, **32**: 27.
- Lersten N. R. and Voth, P. D. 1960. Experimental control of zooid discharge and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha*. *Bot. Gaz.*, **122**: 33-45.
- 松岡正義. 1980. ヒトエグサ冷蔵・冷凍保存試験 - I. 昭和55年度徳島水試事報: 126-128.
- McArthur D. M. and Moss B. 1978. Ultrastructural studies of vegetative cells, mitosis and cell division in *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. *Br. Phycol.*, **13**: 255-267.
- 右田清治. 1959. 合成繊維によるノリの採苗について. 長崎大水産学部研報, **8**: 223-228.
- 右田清治. 1964. アマノリ葉体の生体凍結保存 - I. 長崎大水産学部研報, **17**: 44-53.
- 右田清治, 潮田卓三. 1975. ヒトエグサの生体凍結冷蔵. 長崎大水産学部研報, **40**: 35-38.
- 三浦昭雄. 1992. I 異型世代交代. ノリ. 水産学シリーズ食用海藻類の栽培. 三浦昭雄(編). 東京, 恒星社厚生閣. pp. 11-24.
- Moss B. and Marsland, A. 1976. Regeneration of *Enteromorpha*. *Br. Phycol.*, **11**: 309-313.
- Motomura, T. 1995. Premature chromosome condensation of the karyogamy-blocked sperm pronucleus in the fertilization of *Fucus distichus* (Fuciales, Phaeophyceae). *J. Phycol.*, **31**: 108-113.
- Nilsen G. and Nordby, Ø. 1975. A sporulation-inhibiting substance from vegetative thalli of the green alga *Ulva mutabilis*, Føyn. *Planta*, **125**: 127-139.
- 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.
- Nordby Ø. and Hoxmark, R. C. 1972. Changes in cellular parameters during synchronous meiosis in *Ulva mutabilis* Føyn. *Exptl. Cell Res.*, **75**: 321-328.
- Nordby Ø. 1977. Optimal conditions for meiotic spore formation in *Ulva mutabilis* Føyn. *Bot. Mar.*, **20**: 19-28.
- 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.
- Ohno, M. and Miyanoue, K. 1980. The ecology of the food alga *Enteromorpha prolifera*. *Rep. Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, **2**: 11-17.
- 大野正夫, 高橋勇夫. 1988. 高知県下・四万十川に生育するスジアオノリの分布域について. 高知大学海洋生物研報, **10**: 45-54.
- 大野正夫, 松岡正義. 1992. II 異型世代交代. アオノリ. 水産学シリーズ食用海藻類の栽培. 三浦昭雄(編). 東京, 恒星社厚生閣. pp. 61-68.
- Ohno, M. 1993. Cultivation of the green alga, *Monostroma* and *Enteromorpha* "Aonori". In: Ohno, M. and Critchley, A. T. (ed.) Seaweed cultivation and marine ranching, Kanagawa International Fisheries Training Center, Japan International Cooperation Agency (JICA). pp. 7-15.
- 大野正夫, 水谷里香, 田井野清也, 高橋勇夫. 1999. 四万十川に生育するスジアオノリの生態. 高知大学海洋生物研報, **19**: 27-35.
- 大津 航, 安部 昇, 藤田孟男. 1959. 駆除を目的とする青ノリの生理に関する研究. 昭和34年度福岡県有明水試事報: 45-93.

- 奥田節夫, 西條 八束. 1996. 河川感潮域. —その自然と変貌—. 名古屋, 財) 名古屋大学出版会. 248 p.
- Pandy, R. S. and Ohno, M. 1985. An ecological study of cultivated *Enteromorpha*. *Rep. Usa Mar. Biol. Inst. Kochi Univ.*, **7**: 21-31.
- Penfound, W. T. and Howard, J. A. 1940. A phytosociological analysis of an evergreen oak forest in the vicinity of New Orleans. *La. Amer. Midl. Nat.*, **23**: 165-174.
- 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.
- Provasoli, L. 1968. Media and prospects for the cultivation of marine algae. In: Watanabe, A. and Hattori, A. (ed.) Cultures and collections of algae. Proceedings of the U. S.-Japan conference, Hakone, Sept. 1966. Kyoto, Japanese Society of Plant Physiology. pp. 63-75.
- Reddy, C. R. K. and Fujita, Y. 1991. Regeneration of plantlets from *Enteromorpha* (Ulvales, Chlorophyta) protoplasts in axenic culture. *J. Applied Phycol.*, **3**: 265-275.
- Reed, R. H. and Russell, G. 1979. Adaptation to salinity stress in populations of *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. *Estuarine Coastal Mar. Sci.*, **8**: 251-258.
- 瀬川宗吉. 1956. 原色日本海藻図鑑. 大阪, 保育社. 175p.
- 社) 日本資産資源保護協会. 1978. 昭和51年の台風17号に起因する吉野川の濁水が漁業に及ぼした影響調査報告書. 327 p.
- Stratmann, J., Paputsoglu, G. and Oertel, W. 1996. Differentiation of *Ulva mutabilis* (Chlorophyta) gametangia and gamete release are controlled by extracellular inhibitors. *J. Phycol.*, **32**: 1009-1021.
- Tatewaki, M. 1969. Culture studies on the life history of some species of the genus *Monostroma*. *Scientific Papers of the Institute of Algological Research, Faculty of Science Hokkaido University*, **6**: 1-56.
- 館脇正和. 1979. 代表的な大型藻の培養例 (I) 緑藻アオサ, ヒトエグサ. 藻類研究法. 西澤一俊, 千原光雄(編). 東京, 共立出版. pp. 99-106.
- 館脇正和. 1994. ヒラアオノリ. 藻類の生活史集成第1巻 緑藻類. 堀輝三(編), 東京, 内田老鶴圃. pp. 192-193.
- 高木俊祐, 酒井基介, 宮田 匠. 1999. アオノリ養殖漁場環境調査. 平成9年度徳島水試事報: 61-62.
- 高木俊祐, 酒井基介, 宮田 匠. 2000. アオノリ養殖漁場環境調査. 平成10年度徳島水試事報: 62-64.
- 高山繁昭, 吉岡貞範, 山本 翠. 1983. 海苔網に着生したアオノリの酸処理による駆除, スジアオノリ養殖試験. 山口県内海水試事報, **12**: 58-68.
- 天真正勝, 里 圭一郎, 宮田 匠. 2001. アオノリ養殖漁場環境調査. 平成11年度徳島水試事報: 75-76.
- Togashi, T., Motomura, T., Ichimura, T. and Cox, P.A. 1999. Gametic behavior in a marine green alga, *Monostroma angicava*: an effect of phototaxis on mating efficiency. *Sexual Plant Reproduction*, **12**: 158-163.
- 徳田 廣, 大野正夫, 小河久朗. 1987. アオノリ. 海藻資源養殖学. 東京, 緑書房. pp. 111-116.
- 富山 昭. 1967. ノリ網の冷蔵試験. 昭和41年度山口県内海水産試験場事報: 8-11.
- 豊田 昭. 1997. 協業化によるアオノリ養殖に取り組んで. 平成9年度岡山県青年・女性漁業者交流大会試料: 15-19.
- Townsend, C. and Rawson, G. W. 1972. Preliminary results on factors causing zonation in *Enteromorpha* using a tide simulating apparatus. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **8**: 265-276.
- 八栖健朗, 富山 昭. 1955. アヲノリ類の干出駆除試験. 山口県内海水試事報: 20-23.
- 吉田忠生. 1972. 養殖アサクサノリの着生密度と収量との関係. 東北水研報, **32**: 89-94.
- 吉田忠生. 1998. 新日本海藻誌. 東京, 内田老鶴圃. 1222 p.
- 湯浅明彦, 酒井基介, 宮田 匠. 1998. スジアオノリ養殖漁場環境調査. 平成8年度徳島水試事報: 138-140.
- 湯浅明彦, 酒井基介, 牧野賢治. 1997. スジアオノリ養殖漁場環境調査. 平成7年度徳島水試事報: 164-169.
- Woodhead, P. and Moss, B. 1975. The effects of light and temperature on settlement and generation of *Enteromorpha*. *Br. Phycol.*, **10**: 269-272.
- 全国河川研究会. 1997. 河川総合ハンドブック. 東京, 297 p.

附表 質問票

スジアオノリ養殖についてのアンケート

徳島県水産試験場

水産試験場では、平成6年度からスジアオノリについての人工採苗、冷蔵網、養殖漁場環境調査などについての研究を行ってきました。養殖業者皆様方のご指導、ご協力を得て研究もかなり進んでまいりました。ここに、お礼申し上げます。

さて、去年の秋漁期（平成10年10月～平成11年1月）は、秋口の長雨により漁場が淡水化し、天然採苗が難しかったという特異な年でありました。そこで、生産状況を記録に残し、今後の研究に役立てる必要があると考えましたので、遅くなりましたが養殖業者の皆様に平成10年度秋漁期と併せて平成11年度春漁期についてのアンケートを実施させていただきたいと存じますので、ご協力お願い申し上げます。

なお、このアンケートで得ました内容は研究以外には使用しません。また、数字は県全体として取り扱いますので、個人としての数字は出ることはございません。

（平成10年度秋漁期について）

1. 平成10年秋漁期で使用した全網数は、約何枚ですか。
() 枚
2. そのうち、人工採苗した網は約何割ですか。
() 割
3. 平成10年秋漁期の総収穫量は何K gですか。また、そのうち約何割が人工ですか。
総収穫量は() K gで、そのうち人工は() 割です。
4. 漁期中で、最初に収穫できたのはいつ頃ですか。また、網の種類は。
() 月(上旬・中旬・下旬)頃で、(天然採苗網・人工採苗網)でした。
5. 前年度秋漁期中に、最初に収穫できたのはいつ頃ですか。また、網の種類は。
() 月(上旬・中旬・下旬)頃で、(天然採苗網・人工採苗網)でした。

6. 採苗から収穫までの時期についてお聞きします。

(天然採苗)

・種場に網を張り込んでいた期間

月 日～ 月 日頃

・上記のうち、何月何日から何月何日まで種場に張込んだ網を使った時、収穫できましたか？

月 日～ 月 日頃

(人工採苗)

・人工採苗を行った期間

月 日～ 月 日頃

・人工採苗した網を種場に張りましたか、または、直接漁場に張りましたか？

(人工採苗)

- ・人工採苗を行った期間

月 日～ 月 日頃

- ・人工採苗した網を種場に張りましたか、または、直接漁場に張りましたか？

(はい・いいえ・両方やった)

その内訳をお答えください。

種場へ張込んだ () 割

直接漁場へ張込んだ () 割

- ・何月何日から何月何日まで人工採苗した網を使った時、収穫できましたか？

月 日～ 月 日頃

7. 平成10年秋漁期についての感想をどんなことでも結構ですからお書きください。

(平成11年度春漁期「平成11年3月～5月」について)

1. 平成11年春漁期で使用した全網数は、約何枚ですか。() 枚

2. そのうち、人工採苗した網は約何割ですか。

() 割

3. 平成10年春漁期の総収穫量は何Kgですか。また、そのうち約何割が人工ですか。

総収穫量は () Kgで、そのうち人工は () 割です。

4. 漁期中で、最初に収穫できたのはいつ頃ですか。また、網の種類は。

() 月 (上旬・中旬・下旬) 頃で、(天然採苗網・人工採苗網) でした。

5. 採苗から収穫までの時期についてお聞きます。

(天然採苗)

- ・種場に網を張り込んでいた期間

月 日～ 月 日

- ・上記のうち、何月何日から何月何日まで種場に張込んだ網を使った時、収穫できましたか？

月 日～ 月 日

(人工採苗)

- ・人工採苗を行った期間

月 日～ 月 日

- ・人工採苗した網を種場に張りましたか、または、直接漁場に張りましたか？

(はい・いいえ・両方やった)

その内訳をお答えください。

種場へ張込んだ () 割

直接漁場へ張込んだ () 割

- ・何月何日から何月何日まで人工採苗した網を使った時、収穫できましたか？

月 日～ 月 日頃

6. 平成11年春漁期についての感想をどんなことでも結構ですからお書きください。

(人工採苗についての質問)

1. 人工採苗について、お答えください。

ア. 行っている。イ. 過去に行ったことがある。ウ. 行ったことがない。

2. 1でイにお答えになった方。現在、行っていない理由をお聞かせください。

ア. 天然採苗で間に合うから。イ. めんどくさいから。エ. やって見たが、失敗したから。
オ. 母藻がないから。カ. 人工採苗を指導してくれる人がいないから キ. (その他:
)

3. 1でウにお答えになった方。現在、行っていない理由をお聞かせください。

ア. 天然採苗で間に合うから。イ. めんどくさいから。エ. やり方が分からないから。オ.
母藻がないから。カ. 施設がないから。キ. 人工採苗を指導してくれる人がいないから ク.
その他:)

4. 全員に、お答え願います。今後、人工採苗を行う予定について。

ア. 行うつもりである。イ. 行う予定はない。

5. 4でアにお答えになった方。人工採苗の使い方についてお答えください。

ア. 天然採苗を行わず、全て人工採苗で行う。
イ. とりあえず、人工と天然採苗を併用してゆく。
ウ. 時期によって、天然採苗と使い分ける。(例えば、春は人工で、秋は天然で)
エ. 良い種ができれば、人工採苗を行う。
オ. その他:

6. あなたが、人工採苗を始めた年は。

()年 (春漁期・秋漁期)

7. その他、人工採苗でお気づきの点、不明点等がございましたら、ご記入ください。

(養殖技術全般についての質問)

1. 今後、スジアオノリ養殖についての水産試験場に行って欲しい研究内容についての順番を記入してください。

ア. 人工採苗技術 イ. 冷蔵網技術 ウ. 品種の開発 エ. 養殖漁場環境調査
オ. 養殖技術 カ. その他 ()

順番 { — — — — — — }

2. その他、スジアオノリ養殖全般でのご意見を何でもお聞かせください

3. なお、水産試験場にご質問がある方は、住所と氏名、電話番号、(ファックス番号)をご記入ください。ない場合は、記入はいりません。

以上で、アンケート終了です。ありがとうございました。

できるだけ、回収率を高めたいと思っておりますので、全項目記入できていなくとも結構ですから、ご回答ください。

なお、このアンケートにご不明な点等がございましたら、下記までご連絡ください。

記

徳島県水産試験場 増殖科 團 昭紀

Tel: 0 8 8 4 7 - 7 - 1 2 5 1

Fax: 0 8 8 4 7 - 7 - 2 7 4 4