

ツルアラメの発生におよぼす温度の影響

能登谷正浩・足助光久

青森県水産増殖センター (039-34 青森県東津軽郡平内町茂浦字月泊10)

NOTOYA, M. and ASUKE, M. 1983. Influence of temperature on the zoospore germination of *Ecklonia stolonifera* OKAMURA (Phaeophyta, Laminariales) in culture. Jap. J. Phycol. 31: 28-33.

Germination of zoospores in *Ecklonia stolonifera* OKAMURA was observed under five temperature regimes (10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C), with a light intensity of 4000-5000 lux, and a 12:12 photoperiod in modified GRUND and PESI media. The formation and development of both gametophyte and sporophyte germlings were shown to be basically similar to those reported in other genera of the Laminariales. The zoospore germlings grew at 10°C-25°C temperature tested, but growth of both gametophytes and sporophytes was maximum at 20°C. The length of sporophytes up to 400 μm in culture correlated very highly with the width ($L=2.53W-5.13$, $r=0.969$).

Key Index Words: culture; *Ecklonia stolonifera*; growth; Laminariales; Phaeophyta; temperature; zoospore germination.

Masahiro Notoya and Mitsuhsa Asume, Aquaculture Center, Aomori Prefecture, Moura, Hiranai-cho, Aomori-ken, 039-34 Japan.

Ecklonia stolonifera OKAMURA ツルアラメの発生に関しては、神田 (1939) がアラメ、カジメとともに報告しているが、温度等の培養条件を変えて発生をしらべた報告はない。そこで筆者らは、青森県の日本海沿岸に産するツルアラメを用いて、配偶体の生長、成熟過程および幼孢子体の生長におよぼす温度の影響についてしらべたので、ここに報告する。

材料と方法

子嚢斑をつけたツルアラメを青森県深浦町田野沢で1981年11月26日に採集した。遊走子を得るため、藻体から子嚢斑形成部分を切り取り、滅菌海水でよく洗い、直径 20 cm のシャーレに滅菌海水とともに入れ、約 20°C, 3000 lux の下に約 3 時間放置した。遊走子の放出を確かめた後、藻体を取り除き、ピペットで遊走子液 1-2 ml を取り、新たな滅菌海水を満たしたシャーレの一端から静かに注いだ。数分後、遊走子液を注いだ反対側の一端から、再びピペットで遊走子の浮遊した海水を吸い取って別のシャーレへ移し入れる、という操作を 3 回行った後、スライドグラスを敷いたシャーレに遊走子液を入れ遊走子の付着を待った。遊走

子がスライドグラス上に付着したのを確かめ、更に滅菌海水で夾雑物を洗い流した後、温度調節をした培養器に入れた。

温度は 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C の 5 段階とし、照度は 4000-5000 lux で 12 時間ごとの明暗周期とした。このほかに、20°C で光を全く照射しない培養も実施した。

液は改変 GRUND (McLACHLAN 1973) と PESI (SANBONSUGA and HASEGAWA 1969) の 2 培養液を用い、2-3 日目ごとに換水した。

観察はホルマリンで固定したもので実施し、スケッチにはアッペ氏描画装置を用いた。

結果と考察

1. 遊走子の発生: 遊走子の形態は幅 4-5 μm, 長さ 9-10 μm で一端のところが卵形を示し、1 個の色素体と長短 2 本の鞭毛を持つ。コンブ科植物では *Laminaria religiosa* ホソメコンブ (井狩 1921) と *Saccorhiza polyschides* (KAIN 1969) で眼点の存在することが報告されているが、ツルアラメでは神田 (1939) の報告と同様に、ここでも認められず、明らかな走光

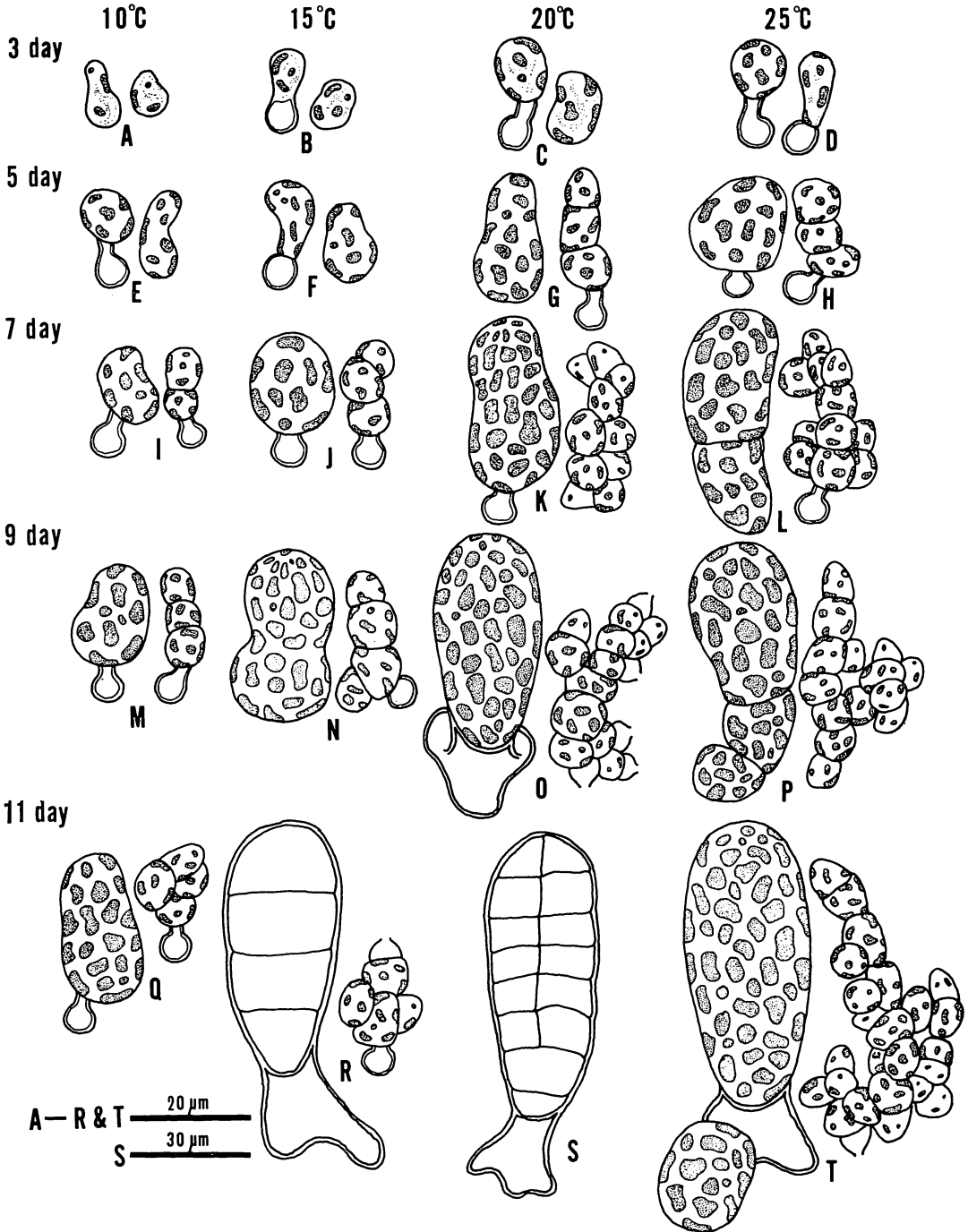


Fig. 1. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Successive stages of zoospore germination and development under 4000-5000 lux, 12: 12 photoperiod, and four temperature regimes. Each pair of germlings represents a female (left) and male (right) gametophyte (except S). A-D. 3-day-old germlings; A and B. Formation of germ tubes; C and D. The first cell-division stages; E-H. 5-day-old germlings. G and H. Morphologically distinguishable female and male gametophytes; I-L. 7-day-old gametophytes. Male and female gametophytes are clearly distinguished by their appearances; M-P. 9-day-old germlings; O. An egg developed from one-celled female gametophyte and male gametophyte with antheridia; Q-T. 11-day-old gametophytes. Q. Gametophytes at 10°C remaining immature; T. Gametophytes at 25°C showing an egg resting on the opening of the oogonium and male gametophyte with antheridia; R. Gametophytes at 15°C forming 4-celled sporophyte with an empty oogonium and mature male gametophyte; S. Gametophyte at 20°C forming young sporophyte.

性も見られなかった。

遊走子の発生は 10°C から 25°C の間で支障なく進んだが、30°C では、培養後 2 日目までにすべてが枯死した。

10°C から 25°C までの発生経過を、培養 3 日目から 1 日おきに観察した結果を Fig. 1 に示した。この発生過程はコンブ科植物 (神田 1939, 1946) で知られるものと基本的に一致しているが、以下に説明するように、温度によって発生速度や発芽体の形態に相違が認められた。すなわち、活発に泳いでいた遊走子は数時間以内に基質に付着して球形となり、鞭毛も消失する。その後 3 日目の観察ですでに温度条件による形状の差異が認められた。10°C では発芽管を伸長し始めたばかり (Fig. 1A) なのに、15°C では原胞子部分の細胞内容物は発芽管へ移動し始め、その部分は空になったものもある (Fig. 1B)。20°C と 25°C では細胞内容物が発芽管に移行した後に細胞壁が生じて原胞子部分と隔てられ、細胞はやや大きくなった。それとともに色素体は数を増し、輪廓も明瞭に観察された (Figs. 1C, D)。培養 5 日目、20°C と 25°C では雌雄の両配偶体の区別がつくようになり、雌性配偶体は普通 1 個細胞から成り、卵形または球形で、色素体は雄性配偶体に比べて大きい。雄性配偶体は数個の細胞から成り、各細胞は雌性配偶体に比べてかなり小さかった (Figs. 1G, H)。培養 7 日目になって 10°C と 15°C の発芽体は雌雄の判別がつくようになった (Figs. 1I, J)。この時期、20°C では雌性配偶体は 1 個細胞のまま体積を増加させ、それとともに上部が膨らみ、そこへ細胞内容物が移動し始める。雄性配偶体は細胞数を 6—10 個まで増加し、細胞列の末端に形成された色素体の減少した細胞が造精器となる (Fig. 1K)。25°C の雌性配偶体は 1—2 個細胞になり、雄性配偶体では十数個細胞まで増加するが、精子器の形成は認められなかった (Fig. 1L)。培養 9 日目、10°C では両配偶体ともゆっくりと生長をつづけ (Fig. 1M)、15°C では雌性配偶体は上部が膨らみ始めるが、雄性配偶体は 3—5 個細胞で細胞数は少なく、造精器の形成は未だ見られなかった (Fig. 1N)。20°C では雌性配偶体は卵形成を完了し、雄性配偶体も完全して、数個の造精器と、すでに精子を放出して空になった細胞が見られた (Fig. 1O)。しかし、25°C では未だ両配偶体とも成熟せずに生長をつづけ、雌性体で 2—4 個、雄性体で 10—15 個と細胞数を増加させた (Fig. 1P)。培養 11 日目、10°C では未だ成熟しなかった (Fig. 1Q) が、15°C では生長の早い個体ですでに 4 個細胞の幼胞子

体が形成され、雄性配偶体では成熟しているものの、数個細胞にとどまり、造精器や精子放出後の細胞も少なく、それぞれ 1—2 個見られる程度であった (Fig. 1R)。20°C では発達した幼胞子体が多数観察でき、最も大きく生長した体では 14 個細胞で葉長 72 μm 、葉幅 30 μm に達した (Fig. 1S)。25°C では少数の雌性配偶体に卵の形成が観察され、一般に 15°C や 20°C で形成される卵に比べて大きかった。また、雄性配偶体では細胞数がかかなり多くなったが、精子を形成したものは少なかった (Fig. 1T)。その後、10°C の発芽体は培養 14 日目まで両配偶体の成熟が観察された。以上の結果から、雌性配偶体は 10°C から 20°C では 1 個細胞で成熟して卵が形成されるが、25°C では 2—3 個細胞になる。雄性配偶体では、温度の高い程細胞数の増加する傾向が見られたが、精子形成数は 20°C で最も多い。従って卵の形成までの期間や、雄性体の成熟状況から 20°C 付近が最も良好な温度条件と考えられる。これは種々のコンブ属植物で知られる生長、成熟に対する温度条件 (殖田 1929, YABU 1964, KAIN 1969, LUNING and NEUSHUL 1978) に比べると、本種の方がより高温で成熟し、栄養生長に対する水温もより高いものと推測され、それは本種の分布域 (岡村 1936) からも納得できる。

また、20°C の暗黒条件下で培養した発芽体は、細胞の伸長は示さないが、1 か月間の培養にも枯死することなく生存し、その後、明条件下に移すことによ

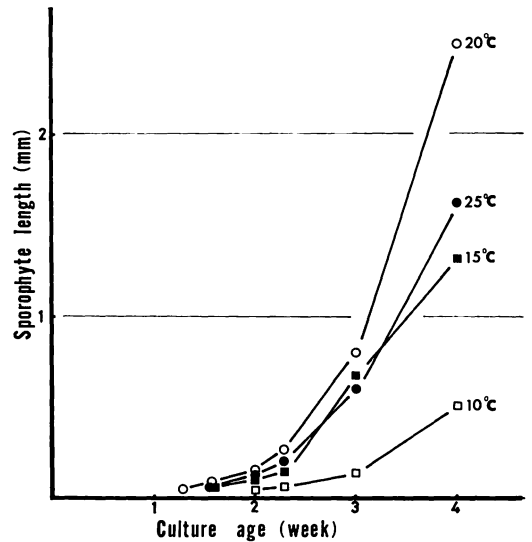


Fig. 2. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Growth of sporophytes cultured at different temperature.

て生長が再開された。これは *Laminaria hyperborea* (KAIN 1964) や *L. digitata*, *L. saccharina* (KAIN 1969) で報告されたものと似た結果といえよう。

2. 胞子体の生長：卵形成以降も、引き続き各温度条件下で培養を続けたところ、Fig. 2 に示すように

10°C, 15°C, 20°C と順次生長は速くなるが、25°C ではおくれた。また、胞子体の形態は 10°C から 20°C まで差異は認められないが、25°C では葉体の縁辺部が波状を呈し、変形する個体が見られた。

Fig. 3 に 20°C での胞子体の生長過程を示した。初期の胞子体は 2 細胞から 8 細胞前後までは長軸に直

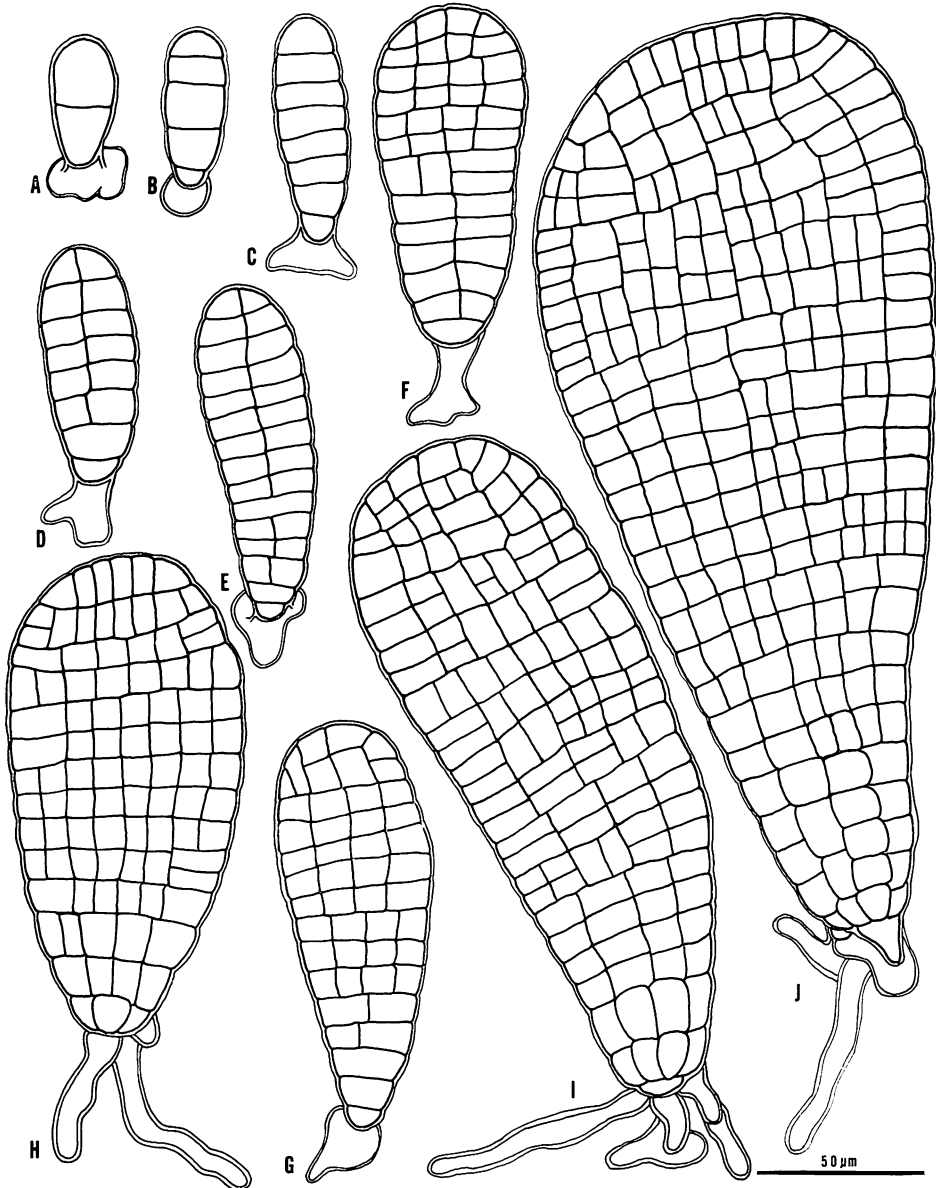


Fig. 3. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Developmental stages of young sporophytes. A-C. 2-8-celled sporophytes divided by transverse walls; D-E. First longitudinal cell divisions at 14-17-celled stages; F-G. 39 and 47-celled sporophytes; H. Early rhizoid formation and initial three dimensional divisions in the basal cells of 92-celled sporophytes; I-J. 122 and 255-celled sporophytes with many rhizoids and two layers of cells at the basal portion.

交する方向にのみ分裂して体を伸長させる。しかし、ごくまれに5細胞の体でも頂端細胞で長軸に平行な分裂を行う体も見られた。この時期の葉長、葉幅はそれぞれ 36-73 μm , 20-27 μm であった (Figs. 3A-C)。その後、基部に近い細胞を残して、長軸に平行な分裂によって体のはぼ中央に隔壁が形成され、細胞数は 14-30細胞となり、葉長は 68-100 μm , 葉幅は 25-35 μm となった (Figs. 3D, E)。更に葉体は長軸に平行または直交する分裂を繰り返し、基盤目状に分裂が進み (Figs. 3F, G), 80-90細胞になると基部細胞は葉体面に平行な分裂を始め、2層細胞の部分形成し始めた。この頃には、仮根の発出も見られ、葉体は葉長約 150 μm , 葉幅約 65 μm の大きさになった (Fig. 3H)。葉体は更に葉長、葉幅を増加させながら生長し、基部に発生した2層部分は上部へも広がる (Fig. 3I)。そして、250細胞前後の葉体では、基部はやや円柱状

を呈するようになった (Fig. 3J)。このように初期孢子体における仮根の形成は、コンブ属 (神田 1946) におけるよりおそいが、葉体基部から2層細胞の形成される時期はリシリコンブ (金子 1973) やホンメコンブ (阪井・船野 1964) より早い。

20°C で培養した葉長 400 μm 前後までの発芽体48個体について、葉長 (L) と葉幅 (W) を測定し、Fig. 4 に図示した。これから回帰直線を求めると $L=2.53W-5.13$ となり、相関係数 0.969 となって明らかに正の相関を示した。この時期までの葉体では、リシリコンブ (金子 1973) と同様に直線回帰した。しかし、葉体の幅はホンメコンブやリシリコンブ (阪井・船野 1964, 金子 1973) より幅広い形態を示す。

改変 GRUND の培地と PESI の両培地で、配偶体と孢子体の発生を比較したが、著しい差異は見られないものの、PEI で培養した配偶体の方が球形に近い形を示す傾向が見られた。

本稿の校閲と御指導をいただいた北海道大学水産学部の齋藤譲博士に感謝の意を表します。

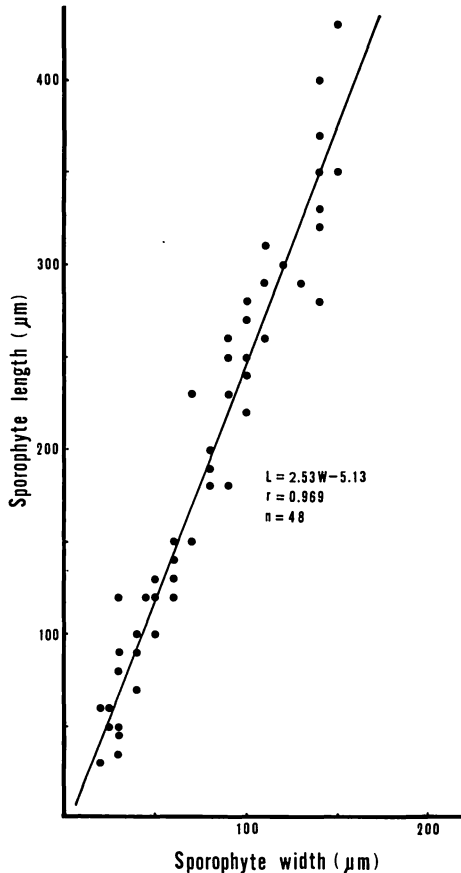


Fig. 4. *Ecklonia stolonifera* OKAMURA. Relationship between width and length of sporophytes cultured at 20°C.

引用文献

- 井狩二郎 1921. ホンメコンブの発生について。植物学雑誌 35: 207-218.
- KAIN, J.M. 1964. Aspects of the biology of *Laminaria hyperborea*. III. Survival and growth of gametophytes. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 44: 415-433.
- KAIN, J.M. 1969. The biology of *Laminaria hyperborea*. V. Comparison with early stage of competitors. J. Mar. Biol. Ass. U.K. 49: 455-473.
- 神田千代一 1939. 暖海産昆布科植物の遊走子培養に就て。服部報公会研報 8: 317-343.
- 神田千代一 1964. 北海道沿岸産昆布族植物の発生学的研究。函館水産研報 1: 1-44.
- 金子 孝 1973. リシリコンブの天然における雌性配偶体および幼体の形態。北水試報告 15: 1-8.
- LÜNNING, K. and NEUSHUL, M. 1978. Light and temperature demands for a growth and reproduction of Laminarian gametophytes in southern and central California. Mar. Biol. 45: 297-309.
- McLACLAN, J. 1973. Growth media-marine, p. 25-51. In J.R. STEIN (ed.) Handbook of Phycological Methods. Cambridge University Press, London.
- 岡村金太郎 1936. 日本海藻誌。内田老鶴圃, 東京.
- 阪井與志雄・船野 隆 1964. 忍路湾におけるホンメ

- コンブの雌性配偶体と孢子体。北水試報告 2: 1-6.
- SANBONSUGA, Y. and HASEGAWA, Y. 1969. Studies on *Laminariales* in culture II. Effects of culture conditons on the zoosporangium formation in *Costaria costaria* (TURN.) SAUNDERS. Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab. 35: 198
- 202.
- 殖田三郎 1929. ほそめこんぶノ発生ト温度トノ関係ニ就テ。水産講習所試験報告 24: 174-180.
- YABU, H. 1964. Early development of several species of *Laminariales* in Hokkaido. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 12: 1-72.