

## 紅藻ウタスツノリの培養

能登谷正浩・菊池則雄・有賀祐勝・三浦昭雄

東京水産大学資源育成学科 (108 東京都港区港南4-5-7)

Notoya, M., Kikuchi, N., Aruga, Y. and Miura, A. 1992. *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara (Bangiales, Rhodophyta) in culture. Jpn. J. Phycol. 40: 273-278.

Life cycle of *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara was completed in culture. Growth and reproduction of both conchocelis and blade phases were examined under different temperatures and light regimes. Carpospores mostly developed into conchocelis at 10-20°C, and about 2% of carpospores developed directly into conchosporangial branches at 20°C. Conchosporangial branches were produced at 15°C under 10L:14D within 2 months. Conchosporangial branches were produced at 15°C under 10L:14D. At 20°C under 10L:14D, blades grew very slowly and attained only 3 mm long in 72 days. Only a very small number of monospores were liberated from blades 7-10 mm long at 15°C under 10L:14D within a month.

*Key Index Words:* Bangiales—laboratory culture—life cycle—*Porphyra kinositae*—Rhodophyta.  
Masahiro Notoya, Norio Kikuchi, Yusho Aruga and Akio Miura, Laboratory of Phycology, Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato-ku, Tokyo, 108 Japan

紅藻アマノリ属植物の生活環は、Drew (1949) の糸状体期の発見によって、巨視的な葉状体と微視的な糸状体の2つの異なる形態の世代から成ることが知られた。その後、室内培養による生活環の観察によって、葉状体に形成される単孢子や不動孢子による無性生殖のみの生活環をもち、世代交代のないもの (Conway *et al.* 1975) や、糸状体から直接葉状体が発達するもの (Miura 1961, Krishnamurthy 1969) などが報告されている。また、世代交代を行なう基本的な生活環のほか、葉状体、糸状体および protothallus からの単孢子の放出や、その他のサブサイクルの存在など (Cole and Conway 1980, Kapraun and Luster 1980, Freshwater and Kapraun 1986, Kapraun and Lemus 1987), 種によってそれぞれ特有な生活環をもつことが報告されている。

これまでに日本に分布するアマノリ属植物は33種報告されている (Miura 1988) が、室内培養によって生活環が完結された種は5種にすぎない (Iwasaki 1961, 鬼頭1978, 右田・伊藤1987, 飯間・右田1990)。そこで著者らは日本に分布するアマノリ属の生活環を明らかにする目的で、これまで数種について室内培養を試みている。本研究ではウタスツノリ *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara を室内培養し、その生活環を完結させるとともに、葉状体および糸状体の生

長や成熟に及ぼす温度、照度、日長などの影響を調べたので以下に報告する。

### 材料と方法

室内培養には1989年3月7日に北海道南部日本海沿岸の歌棄で採集されたウタスツノリ葉状体 (Fig. 1, A) を母藻として用いた。成熟葉状体の果孢子形成部から約1cm角の葉片を切り取り、その表面を筆を用いて滅菌海水中でよく洗浄した後、滅菌海水とともにシャーレに入れ、15°Cの培養庫内で照度2000 lux (約20  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) の下に約1時間放置して果孢子の放出を待った。放出された果孢子はガラスピペットで吸い取り、新たな滅菌海水へ移す操作を数回繰り返してよく洗浄した後、スライドグラス上に載せて発芽させ、単藻培養とした。

糸状体の生長や成熟の観察には、予め20°C, 14L:10Dで糸状体を培養し、これをミキサーで長さ約0.2mmに細断した後スライドグラス上に附着させ、種々の条件下で培養した。糸状体の塊の長径と短径を測定すると同時に殻孢子嚢の形成についても観察した。培養は、温度10, 15, 20°C, 照度1000, 2000, 4000, 8000 lux (約10, 20, 40, 80  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), 光周期は長日 (14L:10D), 短日 (10L:14D) を組み合わせた合計24条

件下で行い、1週間ごとに11週目まで観察した。

葉状体の生長や成熟の観察にはクレモナ糸に付着させた殻胞子を枝付きフラスコで通気培養したものを用い、葉状体の長さや幅を5~10日目ごとに測定し、同時に単胞子の放出や雌雄生殖細胞の形成についても観察した。葉状体の培養は温度10, 15, 20°C, 照度2000~2500 lux (20~25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で、全て10L:14Dの短日条件の下で行った。

培養液としてGrund 改変培地 (McLachlan 1973) を用い、1週間ごとに交換した。

染色体の観察には、試料を酢酸:アルコール(1:3)で1日間固定した後、酢酸・鉄ヘマトキシリン・抱水クロラル液 (Wittmann 1965) で染色した。

## 結 果

### 1. 生活環

天然の葉状体 (Fig. 1, A) から放出された果胞子は直径12.0~18.9  $\mu\text{m}$  の球形で、赤褐色を呈していた (Fig. 1, B)。果胞子は15°Cの長日条件下で培養するとスライドグラスに附着後約2日で発芽した (Fig. 1, C) が、胞子内容物の糸状体への移行は見られなかった。その後、糸状体は分枝しながら次第に生長して塊状になり、1週間後にはその直径は1 mm 程度にまで生長した (Fig. 1, D)。この糸状体を15°Cの短日条件下に移すと、2か月後にはほとんどで殻胞子嚢の形成が認められた (Fig. 1, E)。

一方、20°Cの長日条件下および短日条件下ではともに果胞子は糸状体となることなく、直接殻胞子嚢枝によく似た体に発達したものが約2%あった (Fig. 1, F and G)。この場合の発芽体の生長は極端に遅く、果胞子発芽後24日目でも長さ200  $\mu\text{m}$  程度であった (Fig. 1, F)。その後2か月半培養を継続したが、糸状体の発

出は認められなかった (Fig. 1, G)。しかし、これらの発芽体を15°Cの短日条件下に移して培養したところ、1週間後に胞子の放出が認められ、この胞子は葉状体に生長した。

15°C および 20°C で培養した殻胞子嚢から放出された殻胞子は、いずれも直径9.7~17.4  $\mu\text{m}$  (平均15.3  $\mu\text{m}$ ) の球形で、果胞子と同様に赤褐色を呈していた (Fig. 1, H)。殻胞子は基質に附着後2日程で発芽し、15°Cの短日条件下で培養すると、4日目には3~4細胞に (Fig. 1, I)、10日目には50細胞程度になり、長さ約90  $\mu\text{m}$  の葉状体に生長した (Fig. 1, J)。約2か月後には葉長、葉幅ともに約2~3 cm に達し、雌雄の成熟が認められた。成熟は精子嚢斑の形成が早く、体の先端部から始まって基部近くまで縁辺に形成され、所々、斑状に嚢果の形成が認められ、雌雄同株であった (Fig. 1, N)。嚢果は16 (a/2, b/2, c/4)、精子嚢は128 (a/4, b/4, c/8) の分裂表式であった。

染色体数については、精子形成時に  $n=3$  が観察された (Fig. 1, O)。

葉状体からの単胞子の放出は、15°Cの短日条件下で培養約1か月後の葉長、葉幅ともに7~10 mm の時期に、葉状体30個体から約10個程度で、極く少量の放出が認められた。また、この単胞子を同条件下で培養したところ、約2か月後には葉長1.5~2 cm に達して成熟したが、この葉状体からは単胞子の放出は認められなかった。

### 2. 糸状体および葉状体の生長と成熟に及ぼす温度、照度および光周期の影響

糸状体の生長の比較を Fig. 2 に示す。糸状体の生長は20°Cで最も速く、温度が低くなるに従って遅くなる傾向が認められた。照度に関しては、20°Cの培養では1000 lux (約10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で最も速く、高

Fig. 1. *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara in culture. (A) Gametophytes collected at Utautsu, Hokkaido, Japan on March 7, 1989. (B) Carpospore released from a natural material. (C) Carpospore germling of two days old at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (14L:10D). (D) Filamentous conchocelis thalli of three weeks old at 20°C and 3000 lux (ca. 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (14L:10D). (E) Conchosporangial branches of four weeks old at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (F) Conchosporangial branch developed directly from carpospore, twenty days old at 15°C and 3000 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (14L:10D). (G) Conchosporangial branches developed directly from carpospore, two months old at 20°C and 3000 lux (ca. 30  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (14L:10D). (H) Conchospore liberated from conchosporangium cultured at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (I) Conchospore germling of four days old at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (J) Young blade of ten days old at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (14L:10D). (K) Mature blades of 74 days old at 10°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (L) Mature blades of 52 days old at 15°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (M) Immature blades of 74 days old at 20°C and 2500 lux (ca. 25  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L:14D). (N) Surface view of carposporangia, antheridia and spermatia. (O) Three chromosomes in antheridium cell division. (Scale: 3 cm in A is also for K-M; 20  $\mu\text{m}$  in B is also for C-F, H-J and N; 100  $\mu\text{m}$  in D is also for E and G; 10  $\mu\text{m}$  in O).

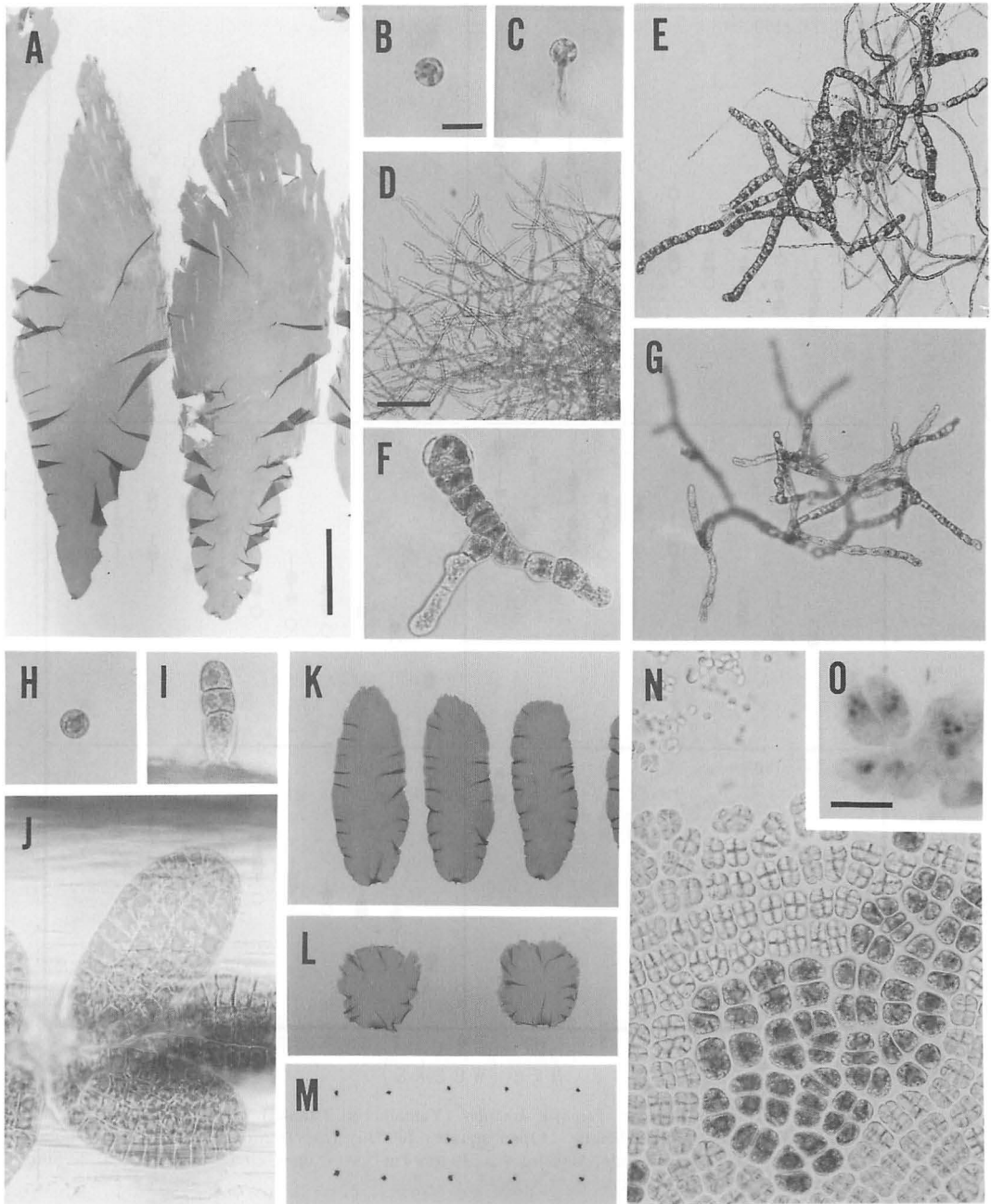


Fig. 1.

照度になる程遅かったが、15°C および 10°C の培養では 2000 lux (約  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) で最も速い傾向が見られた。温度が低くなるに従って、糸状体の生長に対する照度の影響は少なくなった。

殻孢子囊枝の形成率の比較を Fig. 3 に示す。殻孢子

囊の形成は 15°C の短日条件下で最もよく、培養 3 週目から認められ、8 週目までには各照度で 100% の糸状体に形成された。15°C の長日条件下や 20°C の長日および短日条件下では、培養 4 週目から殻孢子囊が形成され始めたが、11 週目になっても 20% 以下であっ

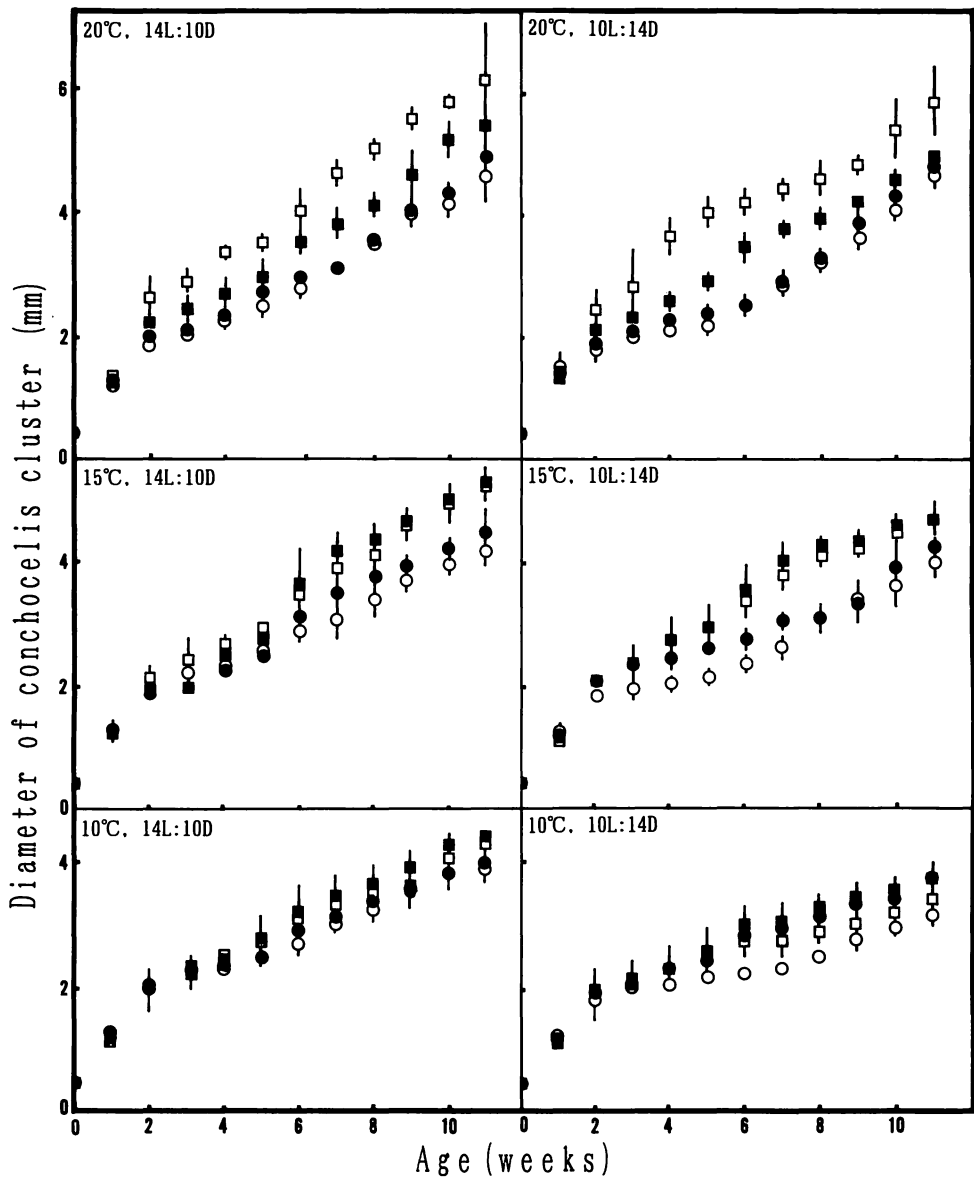


Fig. 2. Growth of conchocelis in *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara under different temperatures, light intensities and daylength. Open square, 1000 lux (ca.  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); solid square, 2000 lux (ca.  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); solid circle, 4000 lux (ca.  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); open circle, 8000 lux (ca.  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Vertical bar, standard deviation.

た。また、 $10^\circ\text{C}$  では長日条件下でも短日条件下でも殻孢子囊の形成は認められなかった。殻孢子囊の形成に及ぼす照度の影響は何れの温度でも大きな差は認められなかった。

殻孢子は、 $15^\circ\text{C}$  の短日条件下では既に培養9週目に多量に放出されたが、 $15^\circ\text{C}$  の長日条件下では培養11週目に極く少量認められるのみで、その他の条件下

では全く認められなかった。

葉状体の生長 (Fig. 4) は  $15^\circ\text{C}$  で最も速く、約7週間で葉長、葉幅ともに3 cm程の円形となって成熟した (Fig. 1, L)。 $10^\circ\text{C}$  ではこれより生長は遅かったが葉長は葉幅の約2倍の長楕円形となり、約2か月半の培養で葉長5~6 cm、葉幅約2 cmに達して成熟が認められた (Fig. 1, K)。しかし、 $20^\circ\text{C}$  では約2か月半

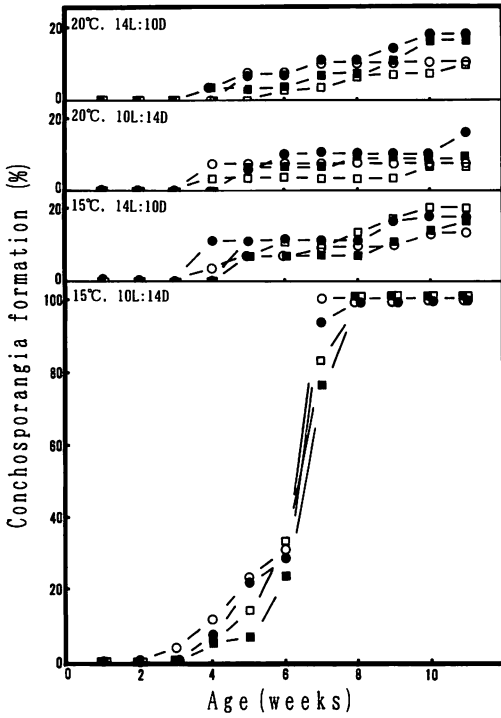


Fig. 3. Formation of conchosporangial branch in *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara under different temperatures, light intensities and daylength. Open square, 1000 lux (ca.  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); solid square, 2000 lux (ca.  $20 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); solid circle, 4000 lux (ca.  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ); open circle, 8000 lux (ca.  $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

の培養でも葉長約 3 mm で成熟は認められなかった (Fig. 1, M).

考 察

ウタスツノリは北海道および青森県の日本海沿岸に分布することが知られている (福原1968)。北海道南

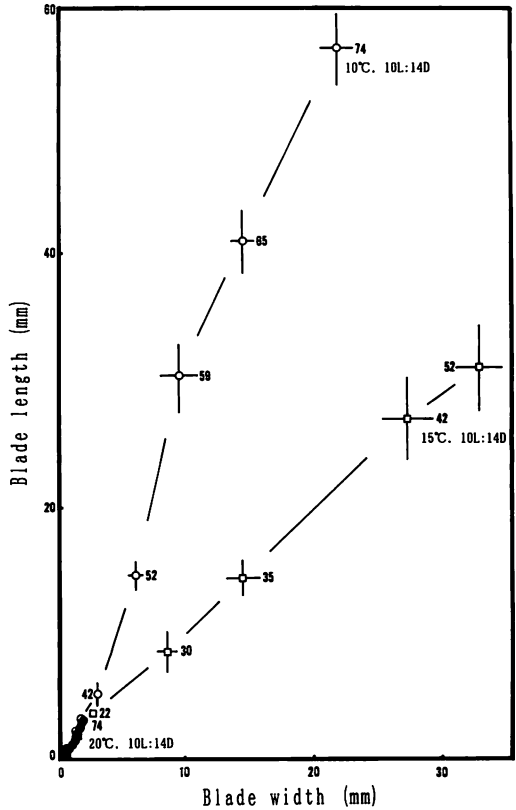


Fig. 4. Growth of blade in *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara under different temperatures. Numerals indicate days in culture. Open circle, 10°C and 2000–2500 lux ( $20\text{--}25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L : 14D); open square, 15°C and 2000–2500 lux ( $20\text{--}25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L : 14D); solid circle, 20°C and 2000–2500 lux ( $20\text{--}25 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (10L : 14D). Vertical and horizontal bars, standard deviation.

部沿岸の歌葉から得られた葉状体を母藻とした上述の培養結果から本種は Fig. 5 に示すような生活環をもつものと考えられる。

本研究では 20°C の高温で極く少量の果胞子が直接

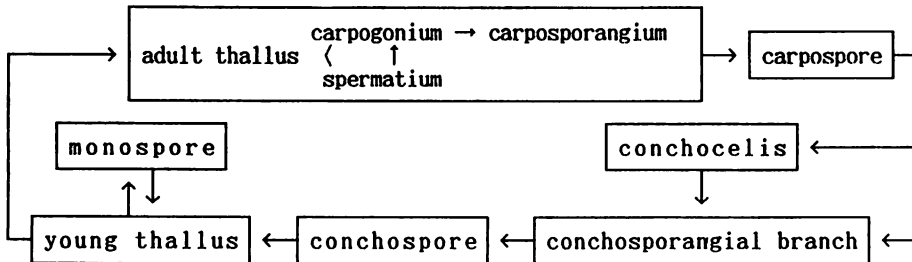


Fig. 5. Life cycle of *Porphyra kinositae* (Yamada et Tanaka) Fukuhara.

殻胞子嚢を形成するのが認められたが、これに似た事例は Cole and Conway (1980) が *P. schizophylla* の果胞子発芽体で観察している。この殻胞子嚢様の体は prothallus へ発達し、胞子を放出する場合があります、この胞子は発芽して葉状体に生長すると報告している。本研究のウタスツノリでは prothallus 様の発芽体は認められなかったが、放出された胞子は葉状体に生長したことから、果胞子から直接殻胞子嚢が形成されたものと推察される。しかし、これまで日本産の種でこのような発芽体は報告されていない。

殻胞子の放出は 15°C のみで見られたが、発芽は 10, 15, 20°C の何れの温度でも認められた。葉状体は低温の 10°C で大型の体となって成熟したが、天然では葉長 20~70 cm, 葉幅 5~15 cm となり、本研究の培養藻体よりはるかに大きくなる。さらに、本種の葉状体が出現する 12~3 月の歌葉付近の水温は 4~8°C (福原 1968) であることから、10°C 以下の低温では、これらの培養藻体より大型の体に生長するものと推察される。

ウタスツノリの単胞子についてはこれまで知られていなかったが (福原 1968), 本培養によって 15°C の短日条件下で葉長 7~10 mm の葉状体から短期間のみ極く少数放出されることが分かった。

これまでに報告のある雌雄生殖細胞形成時の分割様式 (Tanaka 1952, 福原 1968) や染色体数 (Yabu 1972) は、本研究の観察でも同様の結果であった。

## 謝 辞

本研究の材料を採集していただいた北海道水産試験場 名畑進一氏に心から感謝の意を表す。

## 文 献

Cole, K. and Conway, E. 1980. Studies in Bangiaceae: Reproductive modes. *Bot. Mar.* **23**: 545-553.  
 Conway, E., Numford, Jr. T. F. and Scagel, R. F. 1975. The genus *Porphyra* in British Columbia and Washington. *Syesis* **8**: 185-244.

Drew, K. M. 1949. Conchocelis-phase in the life history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz. *Nature* **164**: 748.  
 Freshwater, W. D. and Kapraun, D. F. 1986. Field, culture and cytological studies of *Porphyra carolinensis* Coll et Cox (Bangiales, Rhodophyta) from North Carolina. *Jap. J. Phycol.* **34**: 251-262.  
 福原英司 1968. 北海道近海産アマノリ属の分類学的ならびに生態学的研究. 北水研研究報告 **34**: 40-99.  
 飯間雅文・右田清治 1990. ヤブレアマノリの室内培養. 長崎大学水産学部研究報告 **68**: 13-20.  
 Iwasaki, H. 1961. The life-cycle of *Porphyra tenera* in vitro. *Biol. Bull.* **121**: 173-187.  
 Kapraun, D. F. and Lemus, A. J. 1987. Field and culture studies of *Porphyra spiralis* var. *amplifolia* Oliveira Filho et Coll (Bangiales, Rhodophyta) from Isla de Margarita, Venezuela. *Bot. Mar.* **30**: 483-490.  
 Kapraun, D. F. and Luster, D. G. 1980. Field and culture studies of *Porphyra rosengurtii* Coll et Cox (Rhodophyta, Bangiales) from North Carolina. *Bot. Mar.* **23**: 449-457.  
 鬼頭 鈞 1978. アマノリ属植物の細胞学的研究. 東北水研研究報告 **39**: 29-84.  
 Krishnamurthy, V. 1969. The *Conchocelis* phase of three species of *Porphyra* in culture. *J. Phycol.* **5**: 42-47.  
 McLachlan, J. 1973. Growth media—marine. p. 25-51. In J. R. Stein (ed.), *Handbook of phycological methods*. Cambridge Univ. Press, New York.  
 右田清治・伊藤龍星 1987. 培養によるタネガンマアマノリの生活史. 長崎大学水産学部研究報告 **61**: 7-14.  
 Miura, A. 1961. A new species of *Porphyra* and its *Conchocelis*-phase in nature. *J. Tokyo Univ. Fish.* **47**: 305-311.  
 Miura, A. 1988. Taxonomic studies of *Porphyra* species cultivated in Japan, referring to their transition to the cultivated variety. *J. Tokyo Univ. Fish.* **75**: 311-325.  
 Tanaka, T. 1952. The systematic study of the Japanese Protofloridae. *Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ.* **2**: 1-91.  
 Wittman, W. 1965. Aceto-iron-hematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. *Stain Tech.* **40**: 161-164.  
 Yabu, H. 1972. Observation on chromosomes in some species of *Porphyra* III. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **22**: 261-266.