

## ジベレリンとステビオサイドによる コンブ目 3 種配偶体の成熟と生長の制御

倉島 彰<sup>1</sup>・山本清春<sup>2</sup>

<sup>1</sup> 三重大学大学院生物資源学研究科 (〒 514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577)

<sup>2</sup> 株式会社山本コーポレーション (〒 517-0404 三重県志摩市浜島町浜島 2941-1)

Akira Kurashima<sup>1</sup> and Kiyoharu Yamamoto<sup>2</sup>: Regulation of maturation and growth of three Laminarian gametophytes by gibberellin and stevioside. Jpn. J. Phycol. (Sôru) 60: 9-14, March 10, 2012

Effects of gibberellin, stevioside and their analogs (rebaudioside, isosteviol) on maturation and growth of gametophytes of *Ecklonia cava*, *Eisenia arborea* and *Undaria pinnatifida* were investigated. The maturation rates of these 3 species were reversibly inhibited by 500  $\mu$ M stevioside at 20 °C, 100  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>. The maturation rate of *E. cava* was 2.4% in the stevioside added medium, while it reached 79.4 % after the stevioside removed. The growth rates of the female gametophytes of *E. cava* were not affected by stevioside. Rebaudioside indicate the inhibitory effect on maturation of *E. cava*, but the effect was lower than that of stevioside. Isosteviol had no effect on maturation and growth of *E. cava*. Gibberellin indicated a stimulatory effect on maturation of the 3 species at low light intensity (20 °C, 10  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) and high water temperature (25 °C, 100  $\mu$ mol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) conditions. Ancymidol, an inhibitor of gibberellin biosynthesis, inhibited maturation and growth of *E. cava*. These results indicate that stevioside, rebaudioside and gibberellin act as plant growth regulators on the gametophytes of *E. cava*, *E. arborea* and *U. pinnatifida*.

**Key Index Words:** *Ecklonia cava*, *Eisenia arborea*, gametophyte, gibberellin, maturation, plant growth regulator, stevioside, *Undaria pinnatifida*

<sup>1</sup> Graduate school of Bioresources, Mie University, 1577 Kamihama, Tsu, Mie 514-8507, Japan

<sup>2</sup> Yamamoto Corporation, 2941-1 Hamajima, Shima, Mie 517-0404, Japan

### 緒言

コンブ目藻類の配偶体の生長や成熟は、水温 (Lüning & Neushul 1978, 谷口・秋山 1982, Novacek 1984, Bolton & Levitt 1985, 桐原ら 2003, Morita *et al.* 2003, 田中ら 2008, 馬場 2009, 駒沢・坂西 2009), 光量 (Lüning & Neushul 1978, 谷口・秋山 1982, Novacek 1984, Bolton & Levitt 1985, 林田 2002, 桐原ら 2003, 馬場 2009), 光質 (Lüning & Dring 1975) あるいは鉄 (Motomura & Sakai 1984) などの影響を受けることが知られている。このようなコンブ目藻類配偶体の生理的特性を利用した生長・成熟の制御は、養殖や海中林造成に利用されており、配偶体株の保存や増殖、種苗生産のために必要な技術となっている。一方、陸上植物において伸長調節や成熟促進のために実用化されている植物生長調節剤 (Plant Growth Regulator, PGR) は、海藻ではバイオテクノロジーの分野を除いて利用されていない。

陸上植物の生長や成熟を制御する PGR である植物ホルモンは、大型藻類に対しても作用を持つことが明らかにされている (Bradley 1991)。近年ではアブシジン酸 (ABA) (Nimura & Mizuta 2002) やオーキシンの一種であるインドール-3-酢酸 (IAA) (Kai *et al.* 2006) がマコンブ *Saccharina japonica* (Areschoug) Lane, Mayes, Druehl et Saunders 胞子体の生長や胞子嚢形成にかかわっていることが明らかにされている。ABA や IAA, サイトカイニンなどの植物ホルモ

ンは、多くの大型藻類に含まれていることがガスクロマトグラフィーや HPLC を用いた分析により示されている (Bradley 1991, Stirk *et al.* 2003, Kai *et al.* 2006)。種子植物の伸長生長を促進するホルモンとして知られるジベレリンについては大型藻類での研究は極めて少ないが、数種の藻類においてジベレリン様活性を示す物質が抽出されているほか、ジベレリン添加による影響が報告されている (Iwasaki 1965, Jennings 1968, Bradley 1991, Tarakhovskaya *et al.* 2007)。この中で、Jennings (1968) はコンブ目藻類である *Ecklonia radiata* (C. Agardh) J. Agardh の配偶体の生長がジベレリンによって促進されることを報告している。

種子植物においてジベレリンは 120 種以上が同定されている。その代謝経路も知られており、メバロン酸経路の中間生成物であるイソペンテニル二リン酸がカウラン (ent-kaurene) を経てジベレラン骨格を持つ GA<sub>12</sub>-アルデヒドになり、それから各種のジベレリンにいたる (腰岡 2004)。ジベレリンの前駆物質であるカウランからは、甘味料として知られるステビオサイドとレバウディオサイドも代謝産物として作られる。ステビオサイドとレバウディオサイドはキク科植物の *Stevia rebaudiana* (Beltoni) Beltoni に多く含まれるジテルペン配糖体で、ジベレリンに類似した構造のステビオールをアグリコンに持つ (Fig. 1)。陸上植物においては、ステビオサイドやステビオールの PGR としての作用が研究されており、幼苗の伸長促進、根の伸長促進・抑制、発芽抑制などの作用があるこ

とが知られている (Komai & Iwamura 1983, Hershenhorn *et al.* 1997, Geuns 2003)。しかし、これらの物質が大型藻類に与える影響は全く知られていない。

このような陸上植物の PGR によってコンブ目藻類の配偶体の生長や成熟の制御が可能になれば、養殖や藻場造成のための種苗生産が容易かつ高効率になることが期待される。そこで、本研究ではジベレリンおよび類似した構造を持つステビオサイドとその類似物質が、コンブ目藻類のカジメ *Ecklonia cava* Kjellman, サガラメ *Eisenia arborea* Areschoug, ワカメ *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar の雌性配偶体の生長と成熟におよぼす影響を明らかにすることを目的とした。

## 材料と方法

### 配偶体の培養

実験に用いたカジメ配偶体の母藻は、2003 年 6 月に三重県志摩市で採集した。母藻を三重大学藻類学研究室に持ち帰り、側葉から葉片を切り出した後、これを培養することにより子葉斑を形成させた (Iwao *et al.* 2010)。ワカメ配偶体の母藻は 2008 年 4 月に三重県志摩市で、サガラメ配偶体の母藻は 2008 年 12 月に愛知県南知多町で、それぞれ成熟した藻体を採集した。それぞれの藻体の成熟部分を研究室内で 2–3 時間乾燥させた後、滅菌海水中で遊走子を放出させた。遊走子懸濁液を直径 9 cm 滅菌シャーレ中に並べたスライドガラス上に滴下してから、20 mL の 20 %PESI 培地 (Tatewaki 1966) を満たして静置した。2 時間後、遊走子のスライドガラスへの固着を顕微鏡下で確認後、シャーレを温度 20°C、光周期 12L:12D、光強度 5–10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の条件下で静置培養した。配偶体塊の直径が 1 mm 程度になったところでスライドガラスから配偶体を剥離し、300 mL の 20 %PESI 培地を満たした 500 mL のプラスチック製培養容器に入れ、20°C、12L:12D、10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の条件下に移し、実験に用いるまで保存株として培養した。実験は 2007 年 6 月から 2011 年 3 月にかけて行った。

### 培地の調整

実験には陸上植物の PGR であるジベレリン (Gibberellin A3,

ナカライテスク)、ステビオサイド (Stevioside Standard, 和光純薬)、レバウディオサイド (Rebaudioside A Standard, 和光純薬) のほか、ステビオール の異性体である イソステビオール (Isosteviol Standard, 和光純薬)、ジベレリン合成阻害剤である アンシミドール (Ancymidol, AccuStandard) を使用した。

ジベレリン、ステビオサイド、レバウディオサイドは海水中に 500  $\mu\text{M}$  となるように添加し、オートクレーブで滅菌した後に 20%PESI 培地とした。実験時には必要に応じて 50–0.5  $\mu\text{M}$  に希釈して使用した。対照 (0  $\mu\text{M}$ ) としては PGR 無添加の 20%PESI 培地を用いた。

イソステビオールはエタノールに溶解して 500 mM とした後に、50  $\mu\text{M}$  となるように 20%PESI 培地に添加し、0.2  $\mu\text{m}$  のフィルターにより濾過滅菌した。アンシミドールはアセトンに溶解して 500 mM 溶液とした後に、同様に濾過滅菌した。実験の際には必要に応じて 50–0.5  $\mu\text{M}$  となるように希釈して使用した。500  $\mu\text{M}$  の濃度では、イソステビオール、アンシミドールともに培地が白濁したため使用しなかった。イソステビオールおよびアンシミドールの実験では、対照 (0  $\mu\text{M}$ ) としてエタノールあるいはアセトン濃度が 0.1 % となるように調整した 20 %PESI 培地を用いた。

### 成熟率および生長の測定

実験に際しては、配偶体保存株を乳鉢で細断してから滅菌海水中に懸濁した。配偶体の懸濁液を、各セルに 8ml の 20%PESI 培地を満たした 6 穴培養プレートに滴下し、雌性配偶体と雄性配偶体を合わせた密度が 1  $\text{cm}^2$  あたり 20–30 個体となるようにした。予備培養は、温度 20 °C、光強度 100  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、日長 12L:12D の条件で 3 日間行った。予備培養の後、PGR を添加した 20%PESI 培地に交換した。PGR の濃度の影響を調べる実験は、予備培養と同じ条件で培養を行った。高温条件下における PGR の影響は温度を 25°C、また、低光強度下における影響は光強度を 10  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  として培養を行った。本研究では培地交換は一週間に一度行った。

成熟率は、50–200 個体の雌性配偶体について、卵形成率を測定することによって求めた。雄性配偶体については、生長に伴い精子嚢の観察が困難になる場合があったため測定しなかった。実験期間は 3 週間とした。形成された卵あるいは芽胞体が枯死していた場合は、成熟していないものとした。カジメ配偶体の成熟に対するステビオサイドの影響を調べた実験では、実験終了後も培養を継続した。実験終了後 8 日目 (培養 29 日目) にステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区の配偶体を乳鉢で細断し、再度ステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  および 0  $\mu\text{M}$  の 20%PESI 培地に移して 4 週間成熟率を測定した。いずれの条件も 3 つの実験区を設け値を平均した。

配偶体の生長は、Morita *et al.* (2003) に従い、雌性配偶体を 10–12 個体識別して、デジタルカメラで撮影した配偶体の面積から求めた。撮影は 1 日おきに 2 週間行い、卵を形成した場合は、卵を除いた部分を配偶体面積とした。生長倍率は培養初日の面積に対する相対値で示し、相対生長速度は以

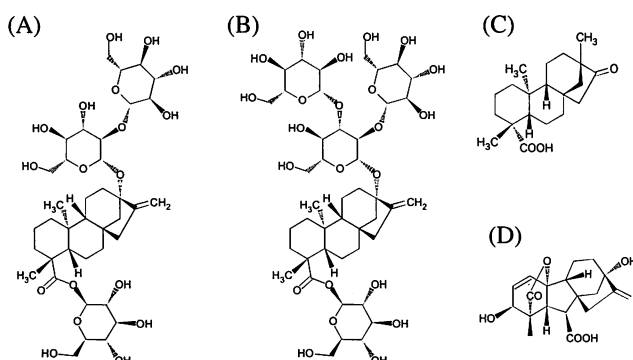


Fig. 1. Chemical structure of stevioside (A), rebaudioside (B), isosteviol (C) and gibberellin A3 (D).

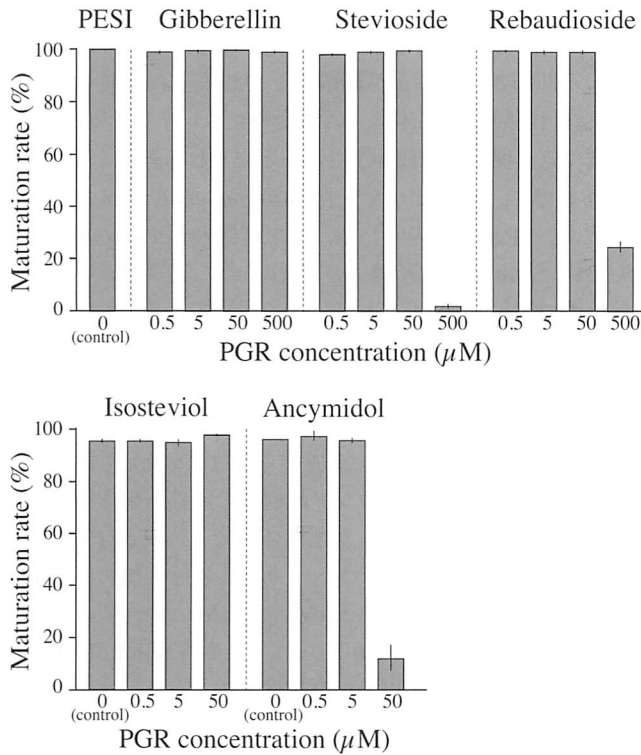


Fig. 2. Effects of PGRs on maturation rates of gametophytes of *Ecklonia cava*. PESI medium was used as control for gibberellin, stevioside and rebaudioside treatments. PESI medium with ethanol (0.1%) and acetone (0.1%) was used as control for isosteviol and ancymidol treatments, respectively. Data are expressed as mean  $\pm$  SE.

下の式によって求めた。

$$\text{相対生長速度 (day}^{-1}\text{)} = \log_e (N_t / N_0) / t$$

ただし、 $N_t$ : 培養  $t$  日目の配偶体面積、 $N_0$ : 培養 0 日目の面積、 $t$ : 培養日数である。

成熟率の値は、逆正弦変換した後に PGR 濃度別の実験では One-way Factorial ANOVA と Dunnett 検定、その他の実験では  $t$  検定により対照区との差を検定した。生長は Kruskal-Wallis および steel test により、対照区との差を検定した。

## 結果

Fig. 2 にカジメ配偶体の成熟率に対する培養 3 週間後の植物生長調節剤 (PGR) の作用を示す。対照区ではいずれも 95 % 以上の雌性配偶体が成熟した。ジベレリン、イソステビオール添加区ではどの濃度においても 94 % 以上が成熟し、対照区に対する有意差は認められなかった。ただし、ジベレリン添加区ではやや早く卵を形成する傾向が見られた。ステビオサイド、レバウディオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区における成熟率はそれぞれ 1.9 %, 24.4 % と対照区よりも有意に低くなった ( $P < 0.01$ )。50  $\mu\text{M}$  以下の濃度ではいずれも 94 % 以上の高い成熟率を示した。アンシミドール 50  $\mu\text{M}$  添加区では培養 12 日目に成熟

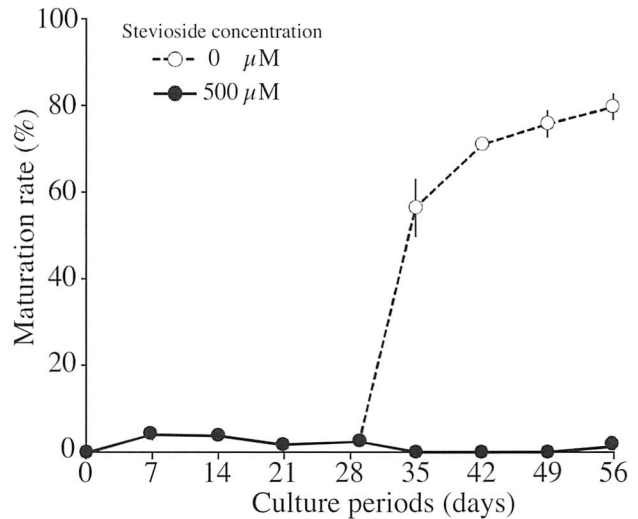


Fig. 3. Changes in maturation rates of gametophytes of *Ecklonia cava* cultured in stevioside added medium. The stevioside concentration was changed on 29 days after culture started. Data are expressed as mean  $\pm$  SE.

率は 31.4 % に達したが、その後、形成された卵や芽胞体が枯死していったため 3 週間目の成熟率は 12.0 % に低下した。

ステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区で培養していたカジメ配偶体を培養 29 日後に細断し、再びステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区および対照区 (0  $\mu\text{M}$ ) に移して培養した結果を Fig. 3 に示す。ステビオサイド添加区での配偶体の成熟率は最大で 4.4 %, 培地変更時には 2.4 % であったが、対照区に移すと成熟率は 6 日後に 56.2 % に増加し、27 日後には 79.4 % に達した。一方、ステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区における成熟率は 0-1.2 % と低いままであった。

Fig. 4 にステビオサイド濃度がカジメ雌性配偶体の面積生長と成熟に与える影響を、個体別に示す。ステビオサイド濃度が高い実験区ほど成熟は遅くなり、0-5  $\mu\text{M}$  添加区では培養 6 日目には 66.7-85.7 % の個体が成熟していたのに対し、50  $\mu\text{M}$  添加区では 36.4 %, 500  $\mu\text{M}$  添加区では 0 % であった。いずれの濃度においても、配偶体の面積は卵を形成するとおむね減少する傾向が見られた。卵形成が見られなかった 4 日目までの配偶体面積の相対生長速度は、対照区 (0  $\mu\text{M}$ ) が  $0.167 \pm 0.013$  (mean  $\pm$  SE), 0.5  $\mu\text{M}$  添加区が  $0.134 \pm 0.018$ , 5  $\mu\text{M}$  添加区が  $0.152 \pm 0.015$ , 50  $\mu\text{M}$  添加区が  $0.132 \pm 0.021$ , 500  $\mu\text{M}$  添加区が  $0.121 \pm 0.014$  で高濃度ほど生長速度が低い傾向があったが、有意差は見られなかった ( $P = 0.39$ )。培養 14 日後の面積は、対照区 (0  $\mu\text{M}$ ) の配偶体では培養開始時の  $1.02 \pm 0.38$  倍であったのに対し、0.5  $\mu\text{M}$  添加区は  $3.43 \pm 1.89$  倍、5  $\mu\text{M}$  添加区は  $1.33 \pm 0.71$  倍、50  $\mu\text{M}$  添加区は  $3.13 \pm 1.06$  倍、500  $\mu\text{M}$  添加区では  $4.68 \pm 0.64$  倍に達し、500  $\mu\text{M}$  添加区では面積が有意に大きくなった ( $P < 0.01$ )。

Fig. 5 にサガラメとワカメ配偶体の成熟率に対する培養 3 週間後のジベレリンとステビオサイドの作用を示す。サガ

ラメでは対照区、ジベレリン 500  $\mu\text{M}$  添加区ともに成熟率は 100 % であったが、ステビオサイド 500  $\mu\text{M}$  添加区では 63.3 % と低くなった。ワカメでは対照区の成熟率が 56.2 % であったのに対し、ジベレリン添加区の成熟率は 100% であり、逆にステビオサイド添加区では 2.1% と有意に低くなった ( $p < 0.001$ )。

低光強度条件 ( $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $20^\circ\text{C}$ ) あるいは高温条件 ( $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $25^\circ\text{C}$ ) において、ジベレリンが 3 種の配偶体の成熟率におよぼす影響を Fig. 6 に示す。カジメ、サガラメの対照条件 ( $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ,  $20^\circ\text{C}$ ) を除き、ジベレリン 500  $\mu\text{M}$  添加区の方が成熟率は有意に高くなった (カジメ、サガラメ高温条件, ワカメ  $p < 0.01$ ; サガラメ低光強度条件  $p < 0.05$ )。特に高温条件下のワカメでは、ジベレリン 0  $\mu\text{M}$  では全く卵形成が認められなかったのに対し、500  $\mu\text{M}$  添加区では 24 % の雌性配偶体が卵を形成した。

### 考察

コンブ目藻類のカジメ、サガラメ、ワカメの配偶体においては、ジベレリンが成熟の促進作用、ステビオサイドとレバウディオサイドは成熟抑制作用を持つ PGR であることが明らかとなった。他の大型藻類においては、紅藻アサクサノリ *Porphyra tenera* Kjellman のコンコセリス (Iwasaki 1965) や緑藻スジアオノリ *Ulva prolifera* (Müller) J. Agardh (Jennings 1968) の生長がジベレリンの添加により促進されることが報告されている。Jennings (1968) は、カジメの近縁種である *Ecklonia radiata* の配偶体をジベレリン添加培地で培養し、ジベレリン濃度  $0.01 \text{ mg L}^{-1}$  ( $=0.029 \mu\text{M}$ ) で最もよく生長し、 $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  ( $=0.29 \mu\text{M}$ ) 以上ではほとんど生長は促進されなかったとしている。本研究ではカジメ、サガラメ、

ワカメの配偶体の卵形成はジベレリン濃度 500  $\mu\text{M}$  で促進されたが、卵形成に伴って栄養細胞が少なくなるために、生長はむしろ抑制されることが顕微鏡下で観察された。したがってコンブ目藻類の配偶体は、低濃度のジベレリンで生長促進、高濃度で成熟促進・生長抑制されると思われる。

これまでに、褐藻ヒバマタ目の *Fucus visiculosus* L. と *F. spiralis* L. (Radley 1961) や、コンブ目の *Ecklonia radiata* の孢子体 (Jennings 1968) から抽出された物質がジベレリン活性を持つことが示されている。また今回の結果において、コンブ目の配偶体ではジベレリンは成熟を促進する PGR、外生ホルモンとして作用していた。そこで、配偶体内でジベレリンが代謝合成されているのかを調べるため、ジベレリン合成阻害剤であるアンシミドールを添加して成熟率を測定した。アンシミドール濃度 50  $\mu\text{M}$  でカジメ配偶体の成熟阻害作用が認められたことから、ジベレリンが配偶体内で生合成されていることが示唆された。しかし、アンシミドールは陸上植物の胚軸生長や根の伸長に対しては 0.12  $\mu\text{M}$  や 1  $\mu\text{M}$  という極めて低い濃度で阻害作用を持つことが知られている (Tanimoto 1987, 1994)。また、100  $\mu\text{M}$  以上の高濃度のアンシミドールは陸上植物のセルロース合成阻害剤として作用することが報告されており (Hofmannová *et al.* 2008)、カジメ配偶体においては成熟率が低下する一方で卵や芽胞体が枯死したことから、アンシミドールが配偶体に対して毒性を持っているために成熟率が低下した可能性もある。今後、配偶体がジベレリンを産生していることを確認するためには、パクロブトラゾールやウニコナゾールなど他のジベレリン合成阻害剤の作用を確認した上で、配偶体抽出物によるジベレリン活性試験やジベレリン分離を行う必要がある。

Hershennhorn *et al.* (1997) は 5 種の陸上植物の発芽と根

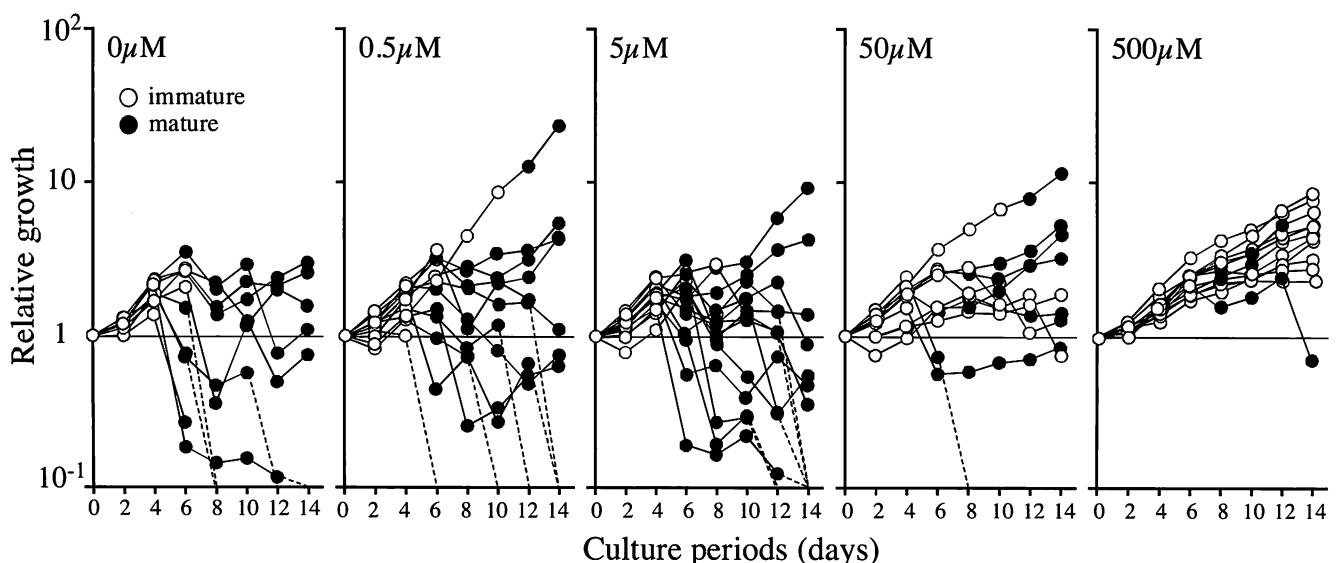


Fig. 4. Growth and maturation of female gametophytes of *Ecklonia cava* at various concentrations of stevioside. Dashed lines indicate all cells of the gametophytes became oogonia and no vegetative cells remained.

の伸長に対して、ステビオール、ステビオサイドおよび 15 種類のイソステビオール誘導体がおよぼす影響を調べた。その結果、物質と植物種の組み合わせによって作用が異なり、同じ物質でも植物種によっては全く反対の作用を示すことがあることを明らかにした。その理由としては、物質の構造がジベレリンと類似しているためにジベレリン様活性を示す場合と、逆に類似しているためにジベレリン受容体との結合を競合してジベレリン阻害活性を示す場合があるためではないかとしている。一方、Komai & Iwamura (1983) はイネ *Oryza sativa* L. とレタス *Lactuca sativa* L. について、ステビオサイドやレバウディオサイド等のステビオール配糖体にジベレリン様活性があることを示し、それは構造的な類似によるものではなく、植物体内でジベレリン様物質に転換されるためではないかとしている。本研究において、ステビオサイドとレバウディオサイドは、カジメ、サガラメ、ワカメの配偶体の成熟に対してジベレリンと逆に抑制作用を持っていた。このことから、これらが構造的な類似によりジベレリンと競合していることが示唆された。しかし、よりジベレリンに類似した構造を持つイソステビオールには活性がみられず、ステビオサイドが持つグルコース部分が活性を持っている可能性もある。

低光量下 ( $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) ではサガラメ配偶体の成熟率はジベレリン無添加区の 11 % から添加区の 24 % に、カジメ配偶体では 26 % から 73 % に、ワカメ配偶体では 24 % から 84 % になった。コンブ目藻類配偶体の成熟下限光量としては、サガラメが  $6\text{--}12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (林田 2002)、アラメが  $500\text{--}1000 \text{ lux}$  (約  $6\text{--}12 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (谷口・秋山 1982) であることが報告されている。ジベレリンは、低光量下においてコンブ目藻類の成熟を促進する作用を持つと考えられる。

田中ら (2008) によれば、カジメ配偶体を  $25^\circ\text{C}$  で 18 日間培養した後の芽胞体形成率は、母藻の産地によって 20 % 以

下から 85 % 以上までの開きがみられた。本研究において、カジメ配偶体を  $25^\circ\text{C}$  で 3 週間培養した後の成熟率は、ジベレリン無添加区では 52 % であったのに対し、添加区では 94 % と多くの個体が卵を形成した。サガラメ配偶体の  $25^\circ\text{C}$  での成熟率も無添加区の 56 % から添加区の 94 % になった。カジメ科藻類配偶体において  $25^\circ\text{C}$  は成熟上限温度に近く、卵形成には不適な環境と考えられるが (谷口・秋山 1982, Novaczek 1984, Bolton & Levitt 1985, 田中ら 2008, 馬場 2009, 駒沢・坂西 2009), ジベレリン添加によりほぼすべての個体が

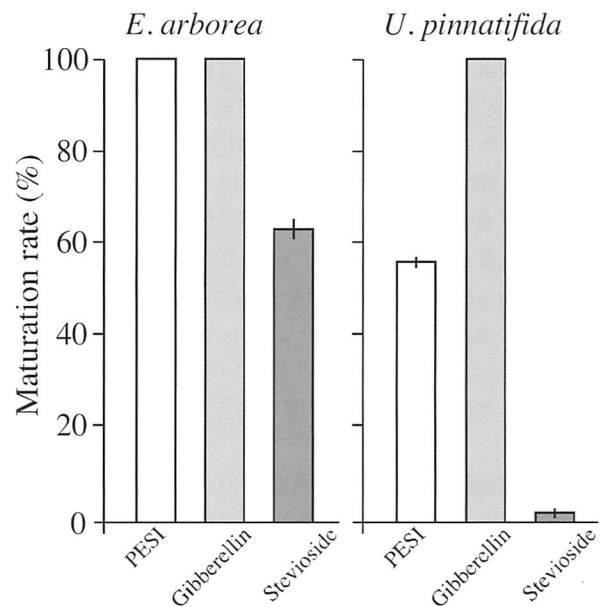


Fig. 5. Effects of gibberellin A3 and stevioside on maturation rates of gametophytes of *Eisenia arborea* and *Undaria pinnatifida*. Data are expressed as mean  $\pm$  SE.

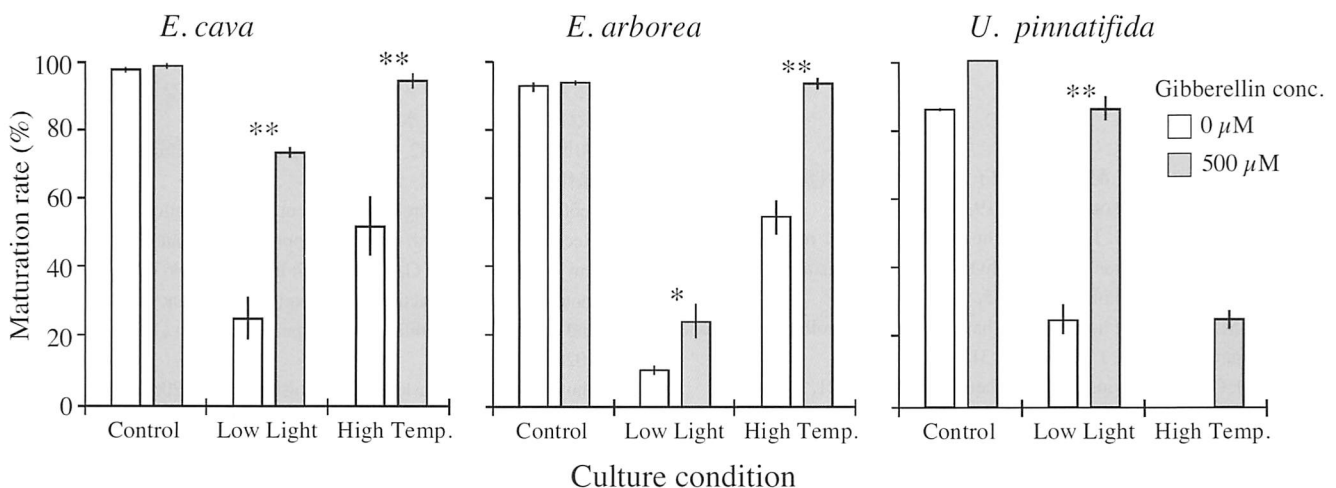


Fig. 6. Effects of gibberellin A3 on maturation rates of gametophytes of *Ecklonia cava*, *Eisenia arborea* and *Undaria pinnatifida* at low light ( $20^\circ\text{C}$ ,  $10 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) and high water temperature ( $25^\circ\text{C}$ ,  $100 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) conditions. Asterisks indicate significant differences between the treatments (\* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ ). Data are expressed as mean  $\pm$  SE.

卵を形成するようになった。ワカメにおいては、配偶体の成熟上限温度は 23 °C であることが Morita *et al.* (2003) によって明らかになっているが、ジベレリン添加培地でワカメ配偶体を培養すると、25 °C においても 24 % の雌性配偶体が卵を形成した。このことから、本来は配偶体が成熟し得ないような環境においても、ジベレリン添加によって成熟させられるように考えると考えられる。

本研究により、ジベレリンにより高温や低光量下でのコンブ目藻類配偶体の成熟が促進されること、ステビオサイドにより配偶体の成熟が可逆的に抑制され生長を続けることが示された。今回はジベレリンのうち広く使用されているジベレリン A3 のみを実験に用いたが、他のジベレリンファミリーにはより大きな作用があるかもしれない。したがって、より適切な PGR を探索することにより、コンブ目藻類配偶体において PGR を用いた 配偶体の維持管理が可能になると考えられる。

PGR によりコンブ目藻類の生活環全体を制御するためには、それらが孢子体に与える影響を知ることも重要である。マコンブの孢子体については、ABA が子嚢斑形成促進と生長抑制 (Nimura & Mizuta 2002), IAA が子嚢斑形成抑制と生長促進 (Kai *et al.* 2006) の作用を持つことが明らかにされている。しかし、本研究で使用したジベレリンやステビオサイドが孢子体に与える影響は研究されていない。今後はこれらの物質を含めた様々な PGR の作用を明らかにしていく必要がある。

一般に大型藻類の養殖や藻場造成のための生長、成熟の制御には、水温、光量等の環境条件の管理が必要である (三浦 1992)。ジベレリンやステビオサイドのような PGR を利用することにより、これらの作業が容易かつ効率的になることが期待される。

## 謝辞

本研究の一部は「農林水産技術会議 新たな農林水産政策を推進する実用技術開発事業」の「既存着定基質への海藻種苗の移植と食害防除による効率的な藻場再生技術の実証試験」として行った。

## 引用文献

- 馬場将輔 2009. クロメの配偶体と幼孢子体の生育に及ぼす温度、光量、塩分の影響. *Algal Resources* 2: 11-19.
- Bolton, J. J. & Levitt, G. J. 1985. Light and temperature requirement for growth and reproduction in gametophytes of *Ecklonia maxima* (Alariaceae: Laminariales). *Mar. Biol.* 87: 131-135.
- Bradley, P. M. 1991. Plant hormones do have a role in controlling growth and development of algae. *J. Phycol.* 27: 317-321.
- Geuns, J. M. C. 2003. Stevioside. *Phytochemistry* 64: 913-921.
- 林田文郎 2002. 海中林構成種サガラメの配偶体と芽胞体の生長に及ぼす光量の影響. *東海大紀要海洋学部* 53: 125-134.
- Hershenhorn, J., Zohar, M., Crammer, B. Ziv, Z. Weinstein, V. & Kleifeld, Y. 1997. Plant-growth regulators derived from the sweetener stevioside. *Plant Growth Reg.* 23: 173-178.

- Hofmannová, J., Schwarzeová, K., Haevelková, L., Boříková, P., Petrášek, J. & Opatrný, Z. 2008. A novel, cellulose synthesis inhibitory action of ancymidol impairs plant cell expansion. *J. Exp. Bot.* 59: 3963-3974.
- Iwasaki, H. 1965. Nutritional studies of the edible seaweeds *Porphyra tenera* I. The influence of different B12 analogues, plant hormones, purines and pyrimidines on the growth of conchocelis. *Plant & Cell Physiol.* 6: 325-336.
- Iwao, T., Yamaguchi, T., Kurashima, A. & Maegawa, M. 2010. Effect of laminaran accumulation on maturation in sporophyte fragments from *Ecklonia cava* (Phaeophyceae, Laminariales) under various laboratory light and temperature conditions. 58: 132-137.
- Jennings, R. C. 1968. Gibberellins as endogenous growth regulators in green and brown algae. *Planta (Berl.)* 80: 34-42.
- Kai, T., Nimura, K., Yasui, H. & Mizuta, H. 2006. Regulation of sorus formation by auxin in Laminariales sporophyte. *J. Appl. Phycol.* 18: 95-101.
- 桐原慎二・藤川善一・能登谷正浩 2003. 褐藻ガゴメの配偶体の成熟及び幼孢子体の生長に及ぼす温度、光量の影響. *水産増殖* 51: 281-286.
- Komai, K. & Iwamura, J. 1983. Effects of stevioside and its relative compounds of growth of rice and lettuce seedlings. *J. Pesticide Sci.* 8: 445-450.
- 駒沢一朗・坂西芳彦 2009. 暖海性コンブ目アントクメ配偶体の生長と成熟におよぼす温度の影響. *藻類* 57: 129-133.
- 腰岡政二 2004. 園芸植物におけるジベレリン代謝とその制御に関する研究. *植物の生長調節* 39: 1-9.
- Lüning, K. & Dring, M. J. 1975. Reproduction, growth and photosynthesis of gametophytes of *Laminaria saccharina* grown in blue and red light. *Mar. Biol.* 29: 195-200.
- Lüning, K. and Neushul, M. 1978. Temperature demands for growth and reproduction of Laminarian gametophytes in southern and central California. *Mar. Bio.* 45: 297-309.
- 三浦昭雄 1992. 食用藻類の栽培. 恒星社厚生閣. 東京.
- Morita, T., Kurashima, A. & Maegawa, M. 2003. Temperature requirement for the growth and maturation of the gametophytes of *Undaria pinnatifida* and *U. undarioides*. *Phycol. Res.* 51: 154-160.
- Motomura, T. & Sakai, Y. 1984. Regulation of *Laminaria* and *Desmarestia* (Phaeophyta) by iron and boron. *Jap. J. Phycol.* 32: 209-215.
- Nimura, K. & Mizuta, H. 2002. Inducible effects of abscisic acid on sporophyte discs from *Laminaria japonica* Areschoug (Laminariales, Phaeophyceae). *J. Appl. Phycol.* 14: 159-163.
- Novaczek, I. 1984. Response of gametophytes of *Ecklonia radiata* (Laminariales) to temperature in saturating light. *Mar. Biol.* 82: 241-245.
- Radley, M. 1961. Gibberellin-like substances in plants. *Nature* 191: 684-685.
- Stirk, W. A., Novák, O., Strnad, M. & van Staden, J. 2003. Cytokinins in macroalgae. *Plant Growth Regul.* 41: 13-24.
- 田中俊充・四ツ倉典滋・木村 創・能登谷正浩 2008. 和歌山県沿岸に生育するカジメ・クロメ配偶体の生長と成熟および孢子体の初期生長に及ぼす水温の影響. *水産増殖* 56: 343-349.
- 谷口和也・秋山和夫 1982. アラメ配偶体の生長及び成熟に対する水温と光条件. *東北水研研報*. 45: 55-59.
- Tanimoto, E. 1987. Gibberellin-dependent root elongation in *Lactuca sativa*: Recovery from growth retardant-suppressed elongation with thickening by low concentration of GA<sub>3</sub>. *Plant Cell Physiol.* 28: 963-973.
- Tanimoto, E. 1994. Interaction of gibberellin A<sub>3</sub> and ancymidol in the growth and cell-wall extensibility of dwarf pea roots. *Plant Cell Physiol.* 35: 1019-1028.
- Tarakhovskaya, E. R., Maslov, Y. I. & Shishova, M. F. 2007. Phytohormones in algae. *Russ. J. Plant Physiol.* 54: 163-170.
- Tatewaki, M. 1966. Formation of a crustaceous sporophyte with unilocular sporangia in *Scytosiphon lomentaria*. *Phycologia* 6: 62-66.

(Received Sep. 10, 2011; Accepted Feb. 1, 2012)