藻類 Jpn. J. Phycol.（Sôrui）62: 88-92, July 10, 2014

# ヒジキ発芽体の生長および仮根伸長におよぼす水温と光の影響

森田晃央[1]・小黒敏行[2]・斎藤洋一[3]・井上美佐[4]・松田浩一[4]・神谷直明[4]・倉島彰[2*]・前川行幸[2]

[1]三重大学社会連携研究センター（〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577）
[2]三重大学生物資源学部・生物資源学研究科（〒514-8507 三重県津市栗真町屋町 1577）
[3]鳥羽市水産研究所（〒517-0005 三重県鳥羽市坂手町 373-2）
[4]三重県水産研究所（〒517-0404 三重県志摩市浜島町 3564-3）

Teruwo Morita[1], Toshiyuki Oguro[2], Youichi Saitou[3], Misa Inoue[3], Hirokazu Matsuda[3], Naoaki Kamiya[3], Akira Kurashima[2] and Miyuki Maegawa[2]: Temperature and light requirements for the growth of germlings and rhizoids in *Sargassum fusiformе* (Harvey) Setchell. Jpn. J. Phycol. (Sôrui) 62: 88-92, July 10, 2014

Here we report the temperature and light requirements for the growth of *Sargassum fusiformе* with regard to commercial cultivation. The adherence of rhizoids and the growth of thalli and germlings influence cultivation success of this species. The growth of thalli and germlings was measured at five temperatures (7 – 25°C) in light or dark conditions. Under light conditions, thallus growth rate was highest at 20°C, but thalli did not grow at all, at any temperature tested, under continuous dark conditions. Rhizoid growth was highest at 20°C under light, and at 15°C under dark conditions. In continuous dark, rhizoid length leveled off at 0.8 mm after 10 days incubation at the highest temperature tested. Mature plants of S. fusiformе were observed expelling eggs at the field sites from May to July when water temperatures were 20°C. This observation and the laboratory tests suggest the optimal temperature for germling growth is about 20°C.

*Key Index Words*: *germling, light, rhizoid,* Sargassum fusiformе, *temperature*

[1]Social Cooperation Research Center, Mie University, 1577 Kurimamachiya, Tsu, Mie 514-8507, Japan
[2]Graduate School/Faculty of Bioresources, Mie University, 1577 Kurimamachiya, Tsu, Mie 514-8507, Japan
[3]Toba City Science Fisheries Research Institute, 373-2 Sakate, Toba, Mie 517-0005, Japan
[4]Mie Prefectural Science Fisheries Research Institute, 3564-3 Hamajima, Shima, Mie 517-0404, Japan
* Author for correspondence: kurasima@bio.mie-u.ac.jp

## 緒言

ヒジキ *Sargassum fusiformе* (Harvey) Setchell は，藻体長が 1-2 m に達する根部越年生のホンダワラ類である。初夏に生殖器床を形成し，雌雄異株の藻体からそれぞれ卵と精子を放出する。受精卵（幼胚）は粘液物とともに生殖器床上にしばらく留まるが，やがて落下し，仮根で基質に着生するとともに，茎葉（吉田 1984）を形成する。一方，生殖器床を形成した藻体は，卵・精子を放出後，付着器である繊維状根を残して流出する。残存した繊維状根からは，夏から秋にかけて新芽が形成され，新たな個体として生長を開始する。ヒジキは，有性生殖の結果放出される幼胚よりも，繊維状根からの個体の再生によって群落を維持していると考えられている（新井・新井 1983）。

近年，閉鎖的な内湾域では海水や底泥の富栄養化が深刻な問題になっており，藻類による窒素の取り上げが注目されている（能登谷 2002）。また，国産のヒジキに対する需要は大きいが，我が国のヒジキ生産は主に天然藻体の採取にたよっており，需要に応じた供給量を満たしていない（伊藤ら 2008）。近年，韓国ではヒジキの天然群落から藻体を採取し，ロープへ挟み込む養殖法により飛躍的な増産に成功しており（大野 1991，Sohn 1993），我が国に流通するヒジキの大部分は韓国をはじめとする国外からの輸入で賄われているのが現状である（伊藤ら 2008）。国内で一般的に行われているヒジキの養殖方法は，養殖ロープへ挟み込む養殖法により試みられている（伊藤ら 2008）。挟み込み法では天然ヒジキ群落の破壊が懸念されることから，環境保全の観点および消費者ニーズへの対応の観点から，天然藻体の採取に変わり，新たなヒジキ増産・安定供給技術の開発が急務である。

ヒジキに関する研究は，基礎的な研究から応用的な研究まで数多く存在するが（Zou *et al*. 2003, Pang *et al*. 2005, 2006，Zou 2005，Zou & Gao 2005, Salgado *et al*. 2006），ヒジキの生態の解明につながる研究は非常に少ない（新井・新井 1983，Choi & Kim 2004，Zou *et al*. 2006, ）。また，これまでヒジキの生活環に及ぼす環境要因は明らかになっておらず, 生態学的な知見が非常に少ないのが現状である。よって本研究では，ヒジキの幼胚からの種苗生産を実現させるために生態学的知見の収集を目的とし，ヒジキ発芽体の生長におよぼす環境要因を明らかにしようとした。

## 材料と方法

ヒジキの幼胚は 2009 年 6 月 22 日に三重県鳥羽市大村島（Fig. 1）で採集した母藻から採取した。採集した母藻（Fig. 2A）は水道水で数分間洗浄し，絵筆を用いて生殖器床に付着した珪藻，原生動物や甲殻類をぬぐい取った。洗浄した雄性

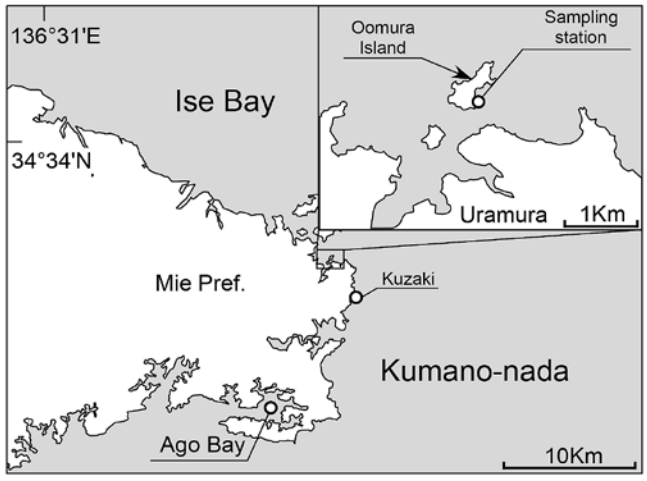


Fig. 1. Sampling sites at Oomura Island and Kuzaki in Mie Prefecture, central Japan.

生殖器床および雌性生殖器床（Fig. 2B）は基部から切断し，20mL の 1/5PESI（西澤・千原 1979）補強海水を注いだ 9 cm シャーレ中で幼胚の落下が確認できるまで振盪培養を行った。その間, 培養液の交換は行わなかった。なお, 本研究では，幼胚から仮根が伸長し，茎葉の屈曲部から新たな茎葉が形成されるまでの発芽体を用いた。

幼胚の落下は 6 月 23 日に確認できた（Fig. 2C）。落下した幼胚をパスツールピペットでシャーレから回収し，滅菌海水を満たした別のシャーレに滴下した。この作業を 3 回繰り返し，洗浄を行い単藻培養とした。洗浄した幼胚の懸濁液を 20mL の 1/5PESI 補強海水とスライドグラスの入った径 9cm シャーレ（CHIC シャーレ）に滴下し，水温 20° C，光周期 12L:12D，光強度 100 $\mu$mol photons $m^{-2}$ $s^{-1}$ の条件下で 2 日間培養することにより，スライドグラスへ着生させた。仮根の形成による着生を確認後，シャーレ中の培地を 1/5PESI 補強海水に交換し，各培養条件に移した。20° C の条件下で培養した 2 日目の幼胚を Fig. 2D に示した。

発芽体の培養条件は，水温が 7，10，15，20，25° C の 5 条件，また光条件については光周期 12L:12D，光強度 100 $\mu$ mol photons $m^{-2}$ $s^{-1}$ の光照射区と連続暗条件区（以下，暗条件区と略す）の 2 条件，計 10 条件を設定した。また，各培養条件には 3 枚のシャーレを準備した。発芽体の仮根の長さは 2 日おき 16 日間にわたり顕微鏡に取り付けたデジタルカメラで撮影し，画像上で仮根の最大長を測定した。また，発芽体の生長は 2 日おき 16 日間にわたり葉状部を撮影し，画像上で発芽体の投影面積によって算出した。1 条件につき 25-45 個体の発芽体を個体識別し，実験期間中は同一個体の生長を測定した。なお，実験終了時にスライドグラスに固着していた発芽体を計数し，実験開始時の付着数に対する固着率として算出した。固着率の比較については，固着率を逆正弦変換し，二元配置分散分析をした後に Bonferroni test で多重比較をした。

また，天然群落の水温変化を調査するために三重県鳥羽市国崎町にて水温計を設置し計測を行った（Fig. 1）。天然群落の水温は，ヒジキ群落の上部（D.L.+108 cm）および下部（D.L.+49 cm）の 2 点について測定した。水温測定には，ポータブル型メモリー式水温計 (Onset TBI32-05+37) を用い，ヒジキの生育している岩盤に固定した。なお，天然群落における水温の測定期間は，ヒジキの成熟期にあたる 5 月 25 日から 7 月 6 日の約 1 ヵ月間とした。

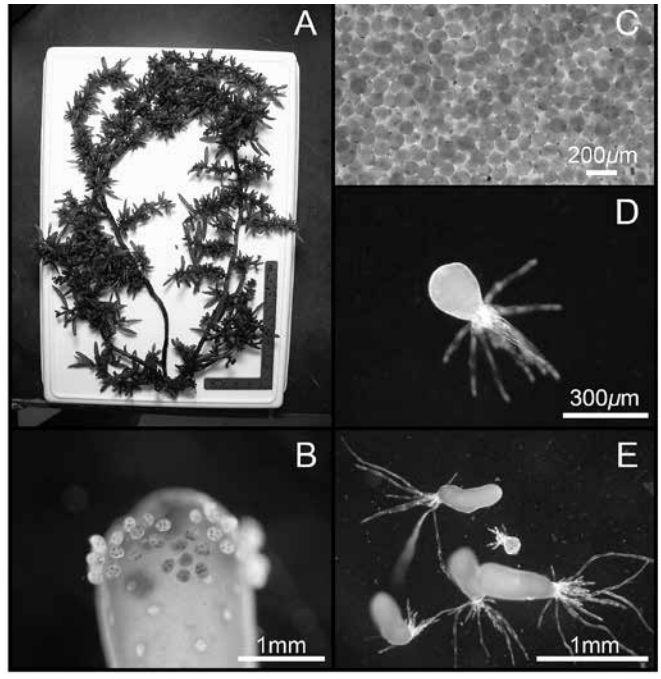


Fig. 2. Mature branchlets and young germlings of *S. fusiforme*: A, Mature female branchlets; B, freshly expelled eggs on the receptacle surface; C, germlings shed from the receptacles; D, germlings with rhizoids 2 days after the start of culture at 20°C; E, germlings 13 days after the start of culture at 20°C.

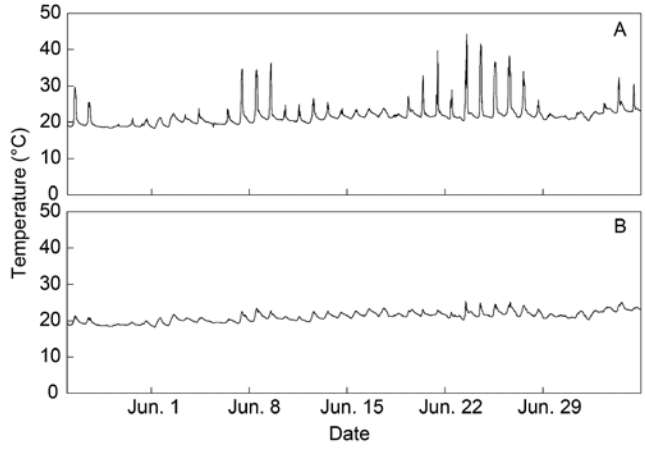


Fig. 3. Daily seawater temperature on the upper (A) and lower (B) boundary of *S. fusiforme* beds at Kuzaki in Mie Prefecture, central Japan, May 25 – Jul. 6.

## 結果

ヒジキ天然群落の水温

ヒジキ群落における水温および気温の変化を Fig. 3 に示し

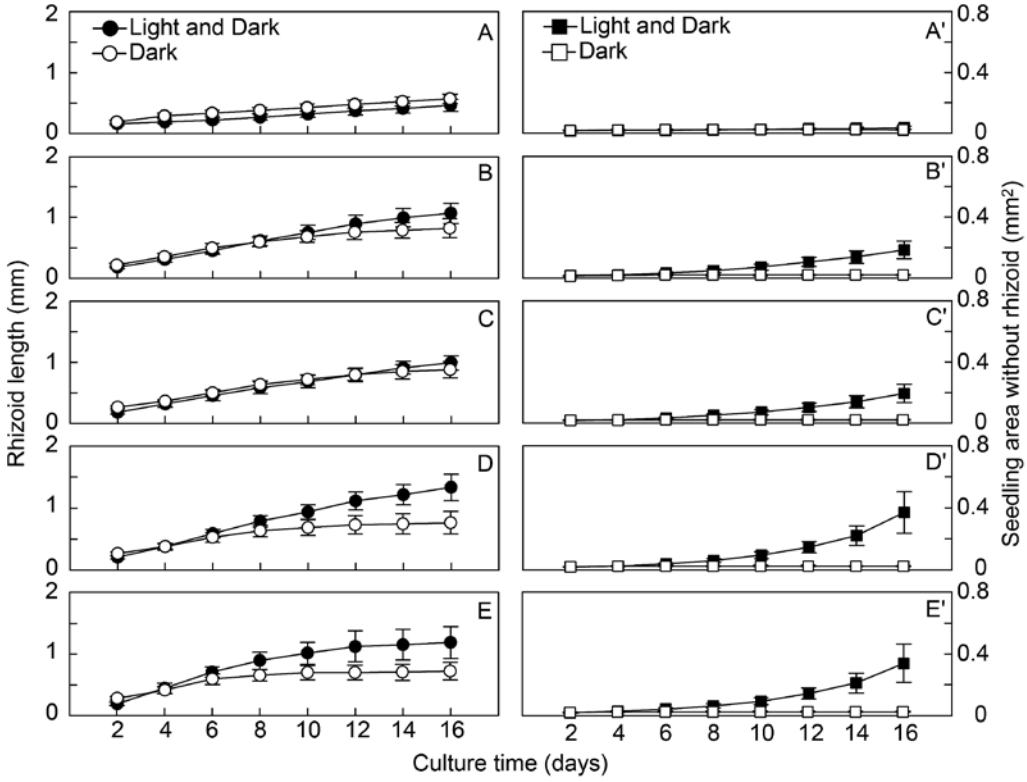


Fig. 4. Rhizoid lengths (A-E) and thallus area (A'-E') after 2 – 16 days culture at different temperatures: A and A', 7°C; B and B', 10°C; C and C', 15°C; D and D', 20°C; E and E', 25°C. Data are mean ± SD (n = 25 – 45).

た。ヒジキ群落の上部では，冠水時には群落下部と同様の 20° C 付近を推移したが，6 月 23 日の干出時には最高で 44° C に達した。群落下部では 6 月 23 日に最高で 25° C に達した。群落下部は，群落上部に比較して干出の影響が少なく顕著な温度の変化は観察されなかった。

ヒジキ発芽体の仮根伸長におよぼす水温の影響

異なる水温条件下における発芽体の仮根伸長の変化を，Fig. 4 に示した。培養 16 日目の全ての条件下で仮根長の平均値の範囲は 0.46-1.33mm であり，仮根の伸長には光条件，水温条件及び培養日数の影響が認められた (**p<0.01, Three-way ANOVA)。Table 1 には光条件，水温及び培養日数の三元配置分散分析結果と交互作用について示した。また，光照射区の水温 7° C，10° C，15° C，20° C，25° C での仮根の伸長は，同じ暗条件区に比較して有意に長かった（**p<0.01, Mann-Whitney U-test)。光照射区で最も仮根の伸長が著しかった 20° C 下 (1.33±0.22 mm) の仮根長は，光照射区の 7° C 下 (0.46±0.09 mm; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test)，15° C 下 (0.98±0.12 mm; *p<0.05, Three-way ANOVA, Bonferroni test) および 25 ° C 下 (1.19±0.26mm; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test) での伸長に比較して有意に長かった。

また，暗条件区で最も仮根が伸長した 15° C 下 (0.88± 0.13 mm) の仮根長は，暗条件区の 7° C 下 (0.57±0.07mm; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test), 20° C 下 (0.76 ± 0.18 mm; *p<0.05, Three-way ANOVA, Bonferroni test) および 25 ° C 下 (0.72±0.14 mm; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test) に比較して有意に仮根長が長かった。

Table 1. ANOVA results of thallus area and rhizoid length of germlings under various culture conditions.

| | Thallus area | | | Rhizoid length | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | d.f. | SS | *F*-value | d.f. | SS | *F*-value |
| Factor | | | | | | |
| Culture time | 7 | 2.47 | 922.22 *** | 7 | 1.11 | 996.83 *** |
| Temperature | 4 | 0.71 | 463.71 *** | 4 | 0.38 | 597.19 *** |
| Light | 1 | 1.94 | 5075.15 *** | 1 | 0.02 | 148.87 *** |
| Culture time×Temp | 28 | 0.85 | 79.49 *** | 28 | 0.09 | 19.14 *** |
| Culture time×Light | 7 | 2.34 | 873.93 *** | 7 | 0.06 | 53.40 *** |
| Temp×Light | 4 | 0.68 | 441.19 *** | 4 | 0.08 | 120.06 *** |
| Culture time×Temp×Light | 28 | 0.86 | 79.96 *** | 28 | 0.04 | 8.28 *** |

***p<0.0001

ヒジキ葉状部の生長におよぼす水温の影響

異なる水温条件下における葉状部の生長の変化を，Fig. 4 に示した。培養 16 日目の全ての条件下で葉状部の平均値の範囲は投影面積で 0.02-0.37 $mm^2$ であり，葉状部の生長には光条件，水温条件及び培養日数の影響が認められた (**p<0.01, Three-way ANOVA)。Table 1 には光条件，水温及び培養日数の三元配置分散分析結果と交互作用について示した。また，光照射区の水温 7° C，10° C，15° C，20° C および 25

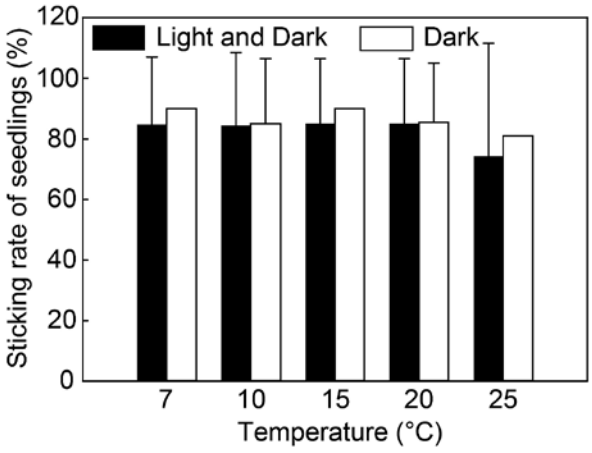


Fig. 5. Sticking rate of germlings 16 days after the start of culture. Data are mean ± SD (n = 3). Vertical bars indicate 95% confidence limits following angular transformation.

° C については，葉状部の生長が暗条件区に比較して良好でありその差は有意であった（**p<0.01, Mann-Whitney U-test)。光照射区で最も生長が著しかった 20° C 下 (0.37 ± 0.13mm2) の葉状部の生長は，光照射区の 7° C 下 (0.04± 0.00mm2; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test), 15 ° C 下 (0.19±0.06 $mm^2$; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test) 及 び 25 ° C 下 (0.34±0.12 $mm^2$; **p<0.01, Three-way ANOVA, Bonferroni test) に比較して良好であった。20° C の条件下で培養した 13 日目の発芽体を Fig. 2E に示した。

一方で, 暗条件区で培養した発芽体の葉状部は, 7° C, 10° C, 15° C，20° C および 25° C の全ての温度下で 16 日後の葉状部の面積は 0.02-0.03 $mm^2$ となりほとんど生長しなかった。

幼胚の固着率

試験終了時にスライドグラスに固着していた発芽体については, 実験開始時に対する固着率として Fig. 5 に示した。また, Table 2 には光条件及び水温の二元配置分散分析結果と交互作用について示した。固着率には光条件，水温の影響が認められなかった (p>0.26, Two-way ANOVA)。光照射区および暗条件区の全ての条件で 74.2% から 90% の高い割合でスライドグラスに固着していた。光照射区の 25° C では 74.2% と最も低い固着率ではあったが，他の条件との有意な差は認められなかった (p>0.61, Two-way ANOVA, Bonferroni test)。

## 考察

Pang *et al*. (2006) は，生殖器床から放出されてまもない幼胚の生長に及ぼす水温と光の影響を調べ，発芽後の葉状部の生長と仮根の伸長は，16° C の低温下よりも 22° C，25 ° C および 29° C の比較的高温下で促進されたと報告している。本研究では，生殖器床から落下した幼胚を異なる水温および光条件で 16 日間培養を行った。ヒジキの仮根は光照射区の高温側 20° C で最も伸長したが，低温 7° C においてはほとんど伸長せず，Pang *et al*. (2006) と同様の結果となった。また，光照射区の水温 7° C，10° C，15° C，20° C および 25° C におけるヒジキの仮根の伸長は，暗条件区に比較して有意に長いことが明らかとなり，ヒジキの仮根の伸長には光の有無が影響していることが示唆された。本研究では予備的な試験によって幼胚の仮根形成は 20° C で最も適していることが明らかとなっていた。よって，幼胚の採取後に 20° C で 2 日間の予備培養を行った後に，各培養条件下で仮根伸長と温度の関係について試験した。試験終了後の幼胚の固着率は，全ての条件下で非常に高く，光照射区の 25° C における 74.2% が最も低い固着率であった。本研究では，仮根の付着基質としてスライドグラスを用いて固着率の測定をしたが，仮根の伸長と固着率の関係は明らかにすることができなかった。今後，異なる基質を用いて発芽体の固着率の測定を行う必要があると考えられる。

Table 2. ANOVA results of sticking rate under various culture conditions.

| Factor | d.f. | SS | *F*-value | *P*-value |
|---|---|---|---|---|
| Temperature | 4 | 395.862 | 1.323 | 0.295 |
| Light | 1 | 97.925 | 1.309 | 0.266 |
| Temp×Light | 4 | 50.946 | 0.17 | 0.951 |

原口ら (2005) は，山口県沿岸でガラモ場を構成するホンダワラ類 9 種について，培養実験から生育適温と上限温度について詳細に調べている。そこでは，ホンダワラ類の生育適温を, 15-20° C の低温型, 20-25° C もしくは 25° C の高温型, および 10-25° C もしくは 15-25° C の広温型と種によって分けている。本研究で得られたヒジキ発芽体の葉状部の生育適温は 20-25° C であったことから，原口らの分類によれば高温型に属すると考えられる。また, 潮間帯に生育する海藻は, 干出時に急激な温度変化にさらされる。タイドプールに生育する海藻でも，干潮時には温度変化を受けることが多く，夏期のタイドプールの水温は 40° C 近くになることが知られている（横浜 1982)。Mizusawa *et al*. (1978) は，タイドプールと漸深帯のそれぞれに生育する海藻の生育水深と光合成温度特性の関係について調べている。タイドプールから得た種は，漸深帯から得た種に比較して光合成の至適温度が高く耐熱性も優れていると報告している。本研究では，ヒジキ群落上部の温度が初夏の干出時に最高で 44° C に達した。潮間帯に生育するヒジキは，短時間ではあるが極めて高い温度にさらされることが考えられ，干出時の急激な温度変化に耐性がある可能性が考えられた。

吉田ら (2000) は，アカモクの幼胚を 1 年間の長期間にわたり低温保存を行い，20° C の条件下で馴致し発芽生長させることに成功している。人工的にアカモクの幼胚を休眠状態に保持することによって，藻場造成や試験研究用の種苗確保が可能となることを示唆している。本研究では，25° C の暗条件区で培養した発芽体を，実験終了後に光照射区にて培養

したが，生長せずに枯死した。一方の 7° C の暗条件区で培養した発芽体は，ほとんど生長しなかったが，光照射区において培養したところ生長することが分かった。よって，ヒジキ発芽体においても低温でかつ暗条件で保存することによって，長期間の休眠状態を保持できる可能性があり非常に興味深い。

三重県のヒジキの成熟時期は，5 月下旬から 7 月上旬にかけて行われるため，ヒジキ群落に水温計を設置し水温変化を測定した。千葉県安房郡小湊町におけるヒジキの幼胚の放出期も三重県と同様に 5 月下旬から 7 月上旬である（新井・新井 1983）。また，Zou *et al*.（2006）は，中国の Nanao 島におけるヒジキの成熟時期は，4 月中旬から 6 月下旬であり，成熟時期の水温は 19-30° C であると報告している。本研究では，ヒジキの仮根の伸長および葉状部の生長には 20° C および 25° C の高温が適していることが明らかとなった。新井・新井（1983）は，天然の岩面削除を行いヒジキの入植の時期を調査し，9 月から幼体が確認したと報告している。すなわち，天然のヒジキ群落では生殖器床からの幼胚の落下後にすばやく幼胚から仮根が伸長し，幼胚が生長すると共に岩盤に固着すると推察できる。また，新井・新井（1983）は，幼胚から生長したヒジキは，干潮時に海水がたまっているくぼ地から出現すると報告している。本研究では，ヒジキの仮根は暗条件区においても幅広い温度帯で伸長が認められた。すなわち，ヒジキの仮根は，くぼ地などの光強度が比較的低い条件でも伸長し岩盤に固着できると考えられる。

本研究では，ヒジキの幼胚を用いた養殖技術開発に資する基礎的知見を得るために，仮根の伸長および発芽体の生長に及ぼす水温及び光の影響について試験を行った。本研究で用いたヒジキは幼胚から発芽体について短期間の培養を行ったものであり，幼体から成体についての生育適温も試験する必要がある。また，様々な生育ステージにおける環境要因とヒジキの生態との関係を明らかにすることによってヒジキ養殖における有用な知見を得ることができると考えられる。

## 謝辞

本研究の一部は，平成 22 年度（財）岡三加藤文化振興財団の研究助成によって行われた。また，三重大学伊賀研究拠点の皆様には本論文をまとめるにあたり有益なご助言をいただき感謝する。

## 引用文献

新井朱美・新井章吾 1983．ヒジキとウミトラノオの入植に影響する諸条件．水産増殖 30: 184-191.

Choi, T. S. & Kim, K. Y. 2004. Spatial pattern of intertidal macroalgal assemblages associated with tidal levels. Hydrobiologia. 512: 49-56.

原口展子・村瀬昇・水上譲・野田幹雄・吉田吾郎・寺脇利信 2005．山口県沿岸のホンダワラ類の生育適温と上限温度．藻類 53: 7-13.

伊藤龍星・寺脇利信・サトイトシリルグレン・北村等 2008．天然藻体のロープへの挟み込み法によるヒジキ養殖．水産増殖 56: 97-103.

Mizusawa, M., Kageyama, A. & Yokohama, Y. 1978. Physiology of benthic algae in tide pools I. Photosynthesis-temperature relationships in summer. The Japanese Journal of Phycology. 26: 109-114.

西澤一俊・千原光雄 1979．藻類研究法．共立出版．東京 .

能登谷正浩 2002．海草類による環境修復．堀輝三・大野正夫・堀口健雄編「21 世紀初頭の藻学の現況」日本藻類学会　山形　pp. 92-94.

大野正夫 1991．韓国でのヒジキ養殖の現状．海苔と海藻 37: 20-23.

Pang, S. J., Chen, L. T., Zhuang, D. G., Fei, X. F. & Sun, J. Z. 2005. Cultivation of the brown alga *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura: enhanced seedling production in tumbled culture. Aquaculture. 245: 321-329.

Pang, S. J., Gao, S. Q. & Sun, J. Z. 2006. Cultivation of the brown alga *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura: controlled fertilization and early development of seedlings in raceway tanks in ambient light and temperature. Journal of Applied Phycology. 18: 723-731.

Salgado, S. G., Nieto, M. A. Q. & Simon, M. M. B. 2006. Optimisation of sample treatment for arsenic speciation in alga samples by focussed sonication and ultrafiltration. Talanta. 68: 1522-1527.

Sohn C. H. 1993. Porphyra, *Undaria* and *Hizikia* cultivation in Korea. The Korean Journal of Phycology. 8: 207-216.

吉田吾郎・吉川浩二・寺脇利信 2000．低温保存したアカモク幼胚の発芽率と成長．日本水産学会誌 66: 739-740.

吉田忠生 1984．ホンダワラ類の分類と分布Ⅰ．海洋と生物 34: 336-340.

横浜康継 1982．海藻の謎．環境と人間の科学 5．三省堂．東京 .

Zou, D., Gao, K. & Xia, J. 2003. Photosynthetic utilization of inorganic carbon in the economic brown algae, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae) from the south China Sea. Journal of Phycology. 39: 1095-1100.

Zou, D. 2005. Effects of elevated atmospheric CO2 on growth, photosynthesis and nitrogen metabolism in the economic brown seaweed, *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta). Aquaculture. 250: 726-735.

Zou, D. & Gao, K. 2005. Photosynthetic characteristics of the economic brown seaweed *Hizikia fusiforme* (Sargassaceae, Phaeophyta), with special reference to its “leaf” and receptacle. Journal of Applied Phycology. 17: 255-259.

Zou, D., Gao, K. & Ruan, Z. 2006. Seasonal pattern of reproduction of *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae, Phaeophyta) from Nanao Island, Shantou, China. Journal of Applied Phycology. 18: 195-201.

（Received Aug. 13, 2010; Accepted Jun. 3, 2014）