

## 紅藻ヤブレアマノリの室内培養

飯間 雅文, 右田 清治

Laboratory Culture of *Porphyra lacerata*  
(Rhodophyceae, Bangiales)

Masafumi IIMA and Seiji MIGITA

The life history of red alga *Porphyra lacerata* Miura collected from Mogi, Nagasaki Prefecture, was studied in laboratory culture.

The culture studies were initiated with using the free-living conchocelis thalli. Fragments of conchocelis thalli were inoculated to oyster shells in culture vessels. Regenerated branchelets penetrated into shells and developed to new conchocelis thalli. The growth morphology and growth rate of shell-living conchocelis thalli was similar to those of *P. yezoensis*. The optimum temperature for the induction of conchosporangia was ranged from 25-27.5°C in *P. lacerata* which was higher than in *P. yezoensis* (20-25°C).

The liberated conchospores germinated into leafy thalli which grew to about 1 cm in length and matured after one month in culture. Matured thalli were monoecious and released both carpospores and monospores in lower temperatures (15-20°C). The matured thalli attained to about 4-9 cm in length after three months in culture. The thickness of the vegetative thalli was comparatively thinner than the other *Porphyra* species.

The chromosome number of *P. lacerata* was counted to be two in vegetative and antheridial cells and four in carpospore germlings and conchosporangia.

**Key words:** ヤブレアマノリ (*Porphyra lacerata*); 紅藻綱 (Rhodophyceae)  
ウシケノリ目 (Bangiales); 室内培養 (laboratory culture)  
生活史 (life history)

ヤブレアマノリ *Porphyra lacerata* は, Miura<sup>1)</sup>によって神奈川県江ノ島産の種類がアマノリ属の新種として記載され, 成熟葉体が精子放出後, 縦に裂けることからその名がつけられた。本種は長崎市や島原市沿岸にも広く分布している。これまで本種については, Miura<sup>1)</sup>の形態についての報告のみで, 室内培養や生活史に関する報告はない。

著者らは長崎市茂木沿岸に多数生育しているヤブレアマノリを用いてその室内培養を行い, 成体まで育て, 生活史を完結することができた。また, 葉体, 糸状体期の染色体も観察したので, それらの結果を報告する。

## 材 料 と 方 法

実験は1986年1月に長崎市茂木で採集されたヤブレアマノリ葉体より果胞子を放出させ, その果胞子発芽体を研究室でフリー糸状体として保存培養したものを用いた。

糸状体期の成長や形態については, フリー糸状体を家庭用ミキサーで約60秒間切断し, その細断枝をカキ殻に付着穿孔させて実験に供した。また, 基質を用いずフリー糸状体をそのままフラットシャーレ内で培養したものについても観察を行った。糸状体の一般的培養は水温20°C, 蛍光灯の白色光2000lx,

12:12hrの光周期のもとで行った。

水温と成長、殻孢子囊枝形成の関係については、20, 25, 27.5, 30°Cの各水温下で培養し、対照のスサビノリと比較した。なお、カキ殻穿孔糸状体の成長はフリー糸状体の細断枝散布後2日後から、殻孢子囊枝形成は1ヶ月後から前記の各水温下に移して実験した。

葉体期の成長や形態については、カキ殻穿孔糸状体より放出された殻孢子と長さ2—3cmのクレモナ単糸とを100ml枝付平底フラスコに入れ、通気して殻孢子を単糸に着生発芽させ、同じ枝付フラスコで培養したものについて観察した。なお、発芽体が成長するにつれてフラスコの容量を200, 300mlと大きくし、また培養藻体を順次減らしていった。葉体の通気培養は、初期25日までは20°C、その後は15, 20, 25°Cの3温度条件下に移し、照度3000lx, 12:12hrの光周期で行った。

培養液はシュライバー液にP1微量金属液を加えたものを用い、糸状体の培養では1週間毎に、通気培養では2日毎に換水した。

染色体の観察は、酢酸アルコールで固定し、Wittmann法<sup>2)</sup>で染色して観察した。

## 結 果

### 糸状体期

糸状体は、保存培養中のフリー糸状体の細断枝をカキ殻に散布し、その穿孔成長の形態を観察した。貝殻内部への枝の穿孔は散布して3日後からみられ、7日後には体長150—200 $\mu$ m, 10日後には300 $\mu$ mに成長し、糸状体特有の対生した枝が多くみられるようになった (Fig. 1—A, B)。

この間の穿孔糸状体の初期成長は、スサビノリなどの他のアマノリの穿孔糸状体の成長とほぼ同様で、前方または側方に枝を伸ばし、それらがやや肥大してさらに前方に枝を伸ばす成長を繰り返す方法であった。同時に行った対照のスサビノリの初期成長と比較すると、15日後にはヤブレアマノリ480—510 $\mu$ m, スサビノリ450—490 $\mu$ m, 20日後にはヤブレアマノリ1000—1050 $\mu$ m, スサビノリ750—850 $\mu$ mとほぼ同様か、スサビノリよりやや速い成長を示した (Fig. 2)。この頃から枝はほとんど肥大することなく太さ3—4 $\mu$ mの細長い枝を直線的に伸出するようになった。培養45日目には糸状体は径2mm程度の斑点として肉眼でも認められるようになり、内部

の枝は多数錯綜するようになった。十分に繁茂した穿孔糸状体の色は黒紫色を呈した。一方、フリー糸状体の枝の細胞は太さ3—5 $\mu$ m, 長さ30—65 $\mu$ mで不規則に分枝し (Fig. 1—C), 三角フラスコで培養したフリー糸状体のコロニーは全体として黒紫色を呈した。

殻孢子囊枝は培養1ヶ月後から形成し始め、20°Cでの培養よりも25—27.5°Cのやや高温域で早く形成され、2ヶ月後に多数の形成がみられた。貝殻内の殻孢子囊枝細胞の大きさは径10—12 $\mu$ m, 長さ15—20 $\mu$ mであった (Fig. 1—D)。フリー糸状体でも殻孢子囊枝の形成は20°Cよりも高温域で多くみられた。フリー糸状体の殻孢子囊細胞の大きさは径15 $\mu$ m, 長さ25 $\mu$ mと穿孔糸状体よりもやや大きかった (Fig. 1—E)。殻孢子放出直前の成熟した殻孢子囊枝は縦に分裂して多列になったものもみられた。これらの培養を15—20°Cの低温に移すと多数殻孢子を放出した (Fig. 1—F)。

### 葉体期

糸状体より放出された殻孢子は初めアメーバ状であるが、やがて球形になりその直径は平均12.2 $\mu$ mで (Fig. 3—A), 直ちに着生し発芽した (Fig. 3—B)。葉体の成長はクレモナ単糸に付着させたもので観察したが、発芽体は3日後に3細胞となり (Fig. 3—C), 5日後には4—6細胞となって縦分裂が始まり、成長につれて徐々に長楕円形から円形に近い形となった (Fig. 3—D, E)。葉体は20°Cで通気培養25日後には体長約4—6mmとなった。この頃までは単孢子も造精子も未形成で、これを糸からはずして15, 20, 25°Cの各温度で通気培養をしたところ、最も成長の良かった20°C培養では体長1cm前後から単孢子形成および造精子形成がみられた (Fig. 3—F)。培養での本種の葉体は雌雄同株で、精子は直径約3 $\mu$ m, 果孢子は直径12.5 $\mu$ mであり、単孢子の直径は11.8 $\mu$ mであった。

葉体が大きくなるにつれ、単孢子形成が少なくなり、果孢子放出の割合が増加した。培養藻体は、20°C, 約3ヶ月間の通気培養で、孢子放出を繰り返しながら長さ4cm程度まで成長した。最も成長した個体は、長さ約9cm, 幅約10cmに達した (Fig. 3—G)。成熟藻体は円形もしくは腎臓形で、青味を帯びた赤紫色をしており、精子放出部から縦に裂け目が入り破れ、天然の葉体と同様の形態と色を示した。なお、培養葉体の栄養細胞の大きさは、表面観で10—16 $\mu$ m (Fig. 4—A, C), 断面観で15—18 $\mu$ m,

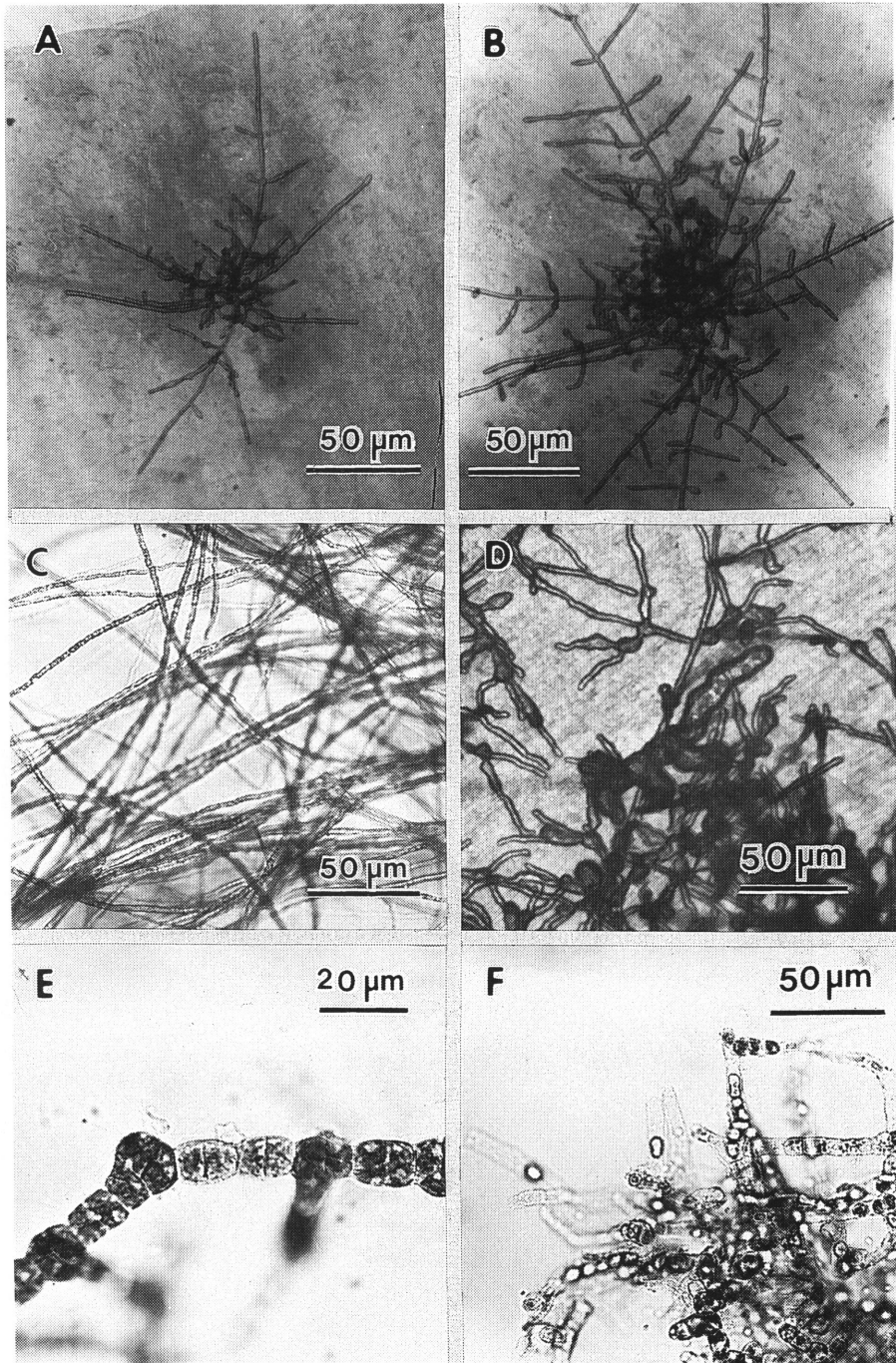


Fig. 1. Filamentous conchocelis thallus of *P. lacerata*.

A : Seven-day-old shell-living conchocelis thalli.

B : Ten-day-old thalli.

C : Free-living conchocelis thalli.

D : Conchosporangial branch of shell-living conchocelis thalli.

E : Conchosporangial branch of free-living conchocelis thalli.

F : Release of conchospores from free-living Conchosporangia.

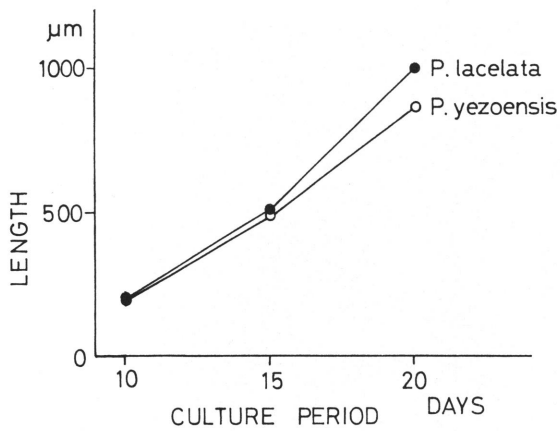


Fig. 2. Growth of shell-living conchocelis thalli of *P. lacerata* and *P. yezoensis*.

藻体の厚さは20–25μmであった (Fig. 4–B)。

生殖細胞の分裂様式は造精器で64 ( $a/4$ ,  $b/4$ ,  $c/4$ )であり (Fig. 4–D, E), 嚢果で4 ( $a/1$ ,  $b/2$ ,  $c/2$ )であった (Fig. 4–F, G)。

Fig. 3. Conchospores germination and their development to adult *P. lacerata*.

A: Conchospore.

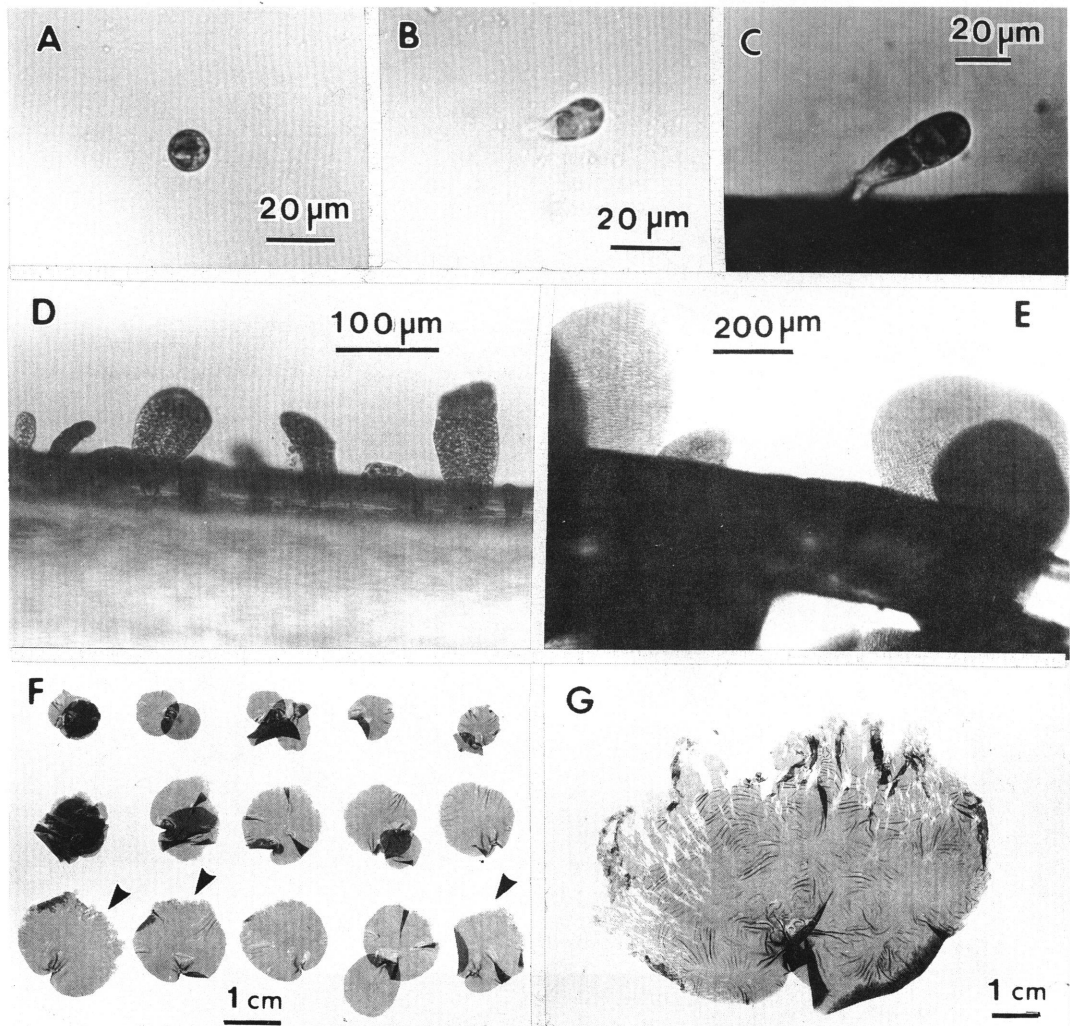
B: One-day-old germling.

C: Three-day-old germling.

D, E: Seven-and twenty-day-old young leafy thalli on vinylon yarn.

F: One-month-old thalli with mature antheridium (arrowheads).

G: Mature thallus, having many lacerate blades after three months in culture.





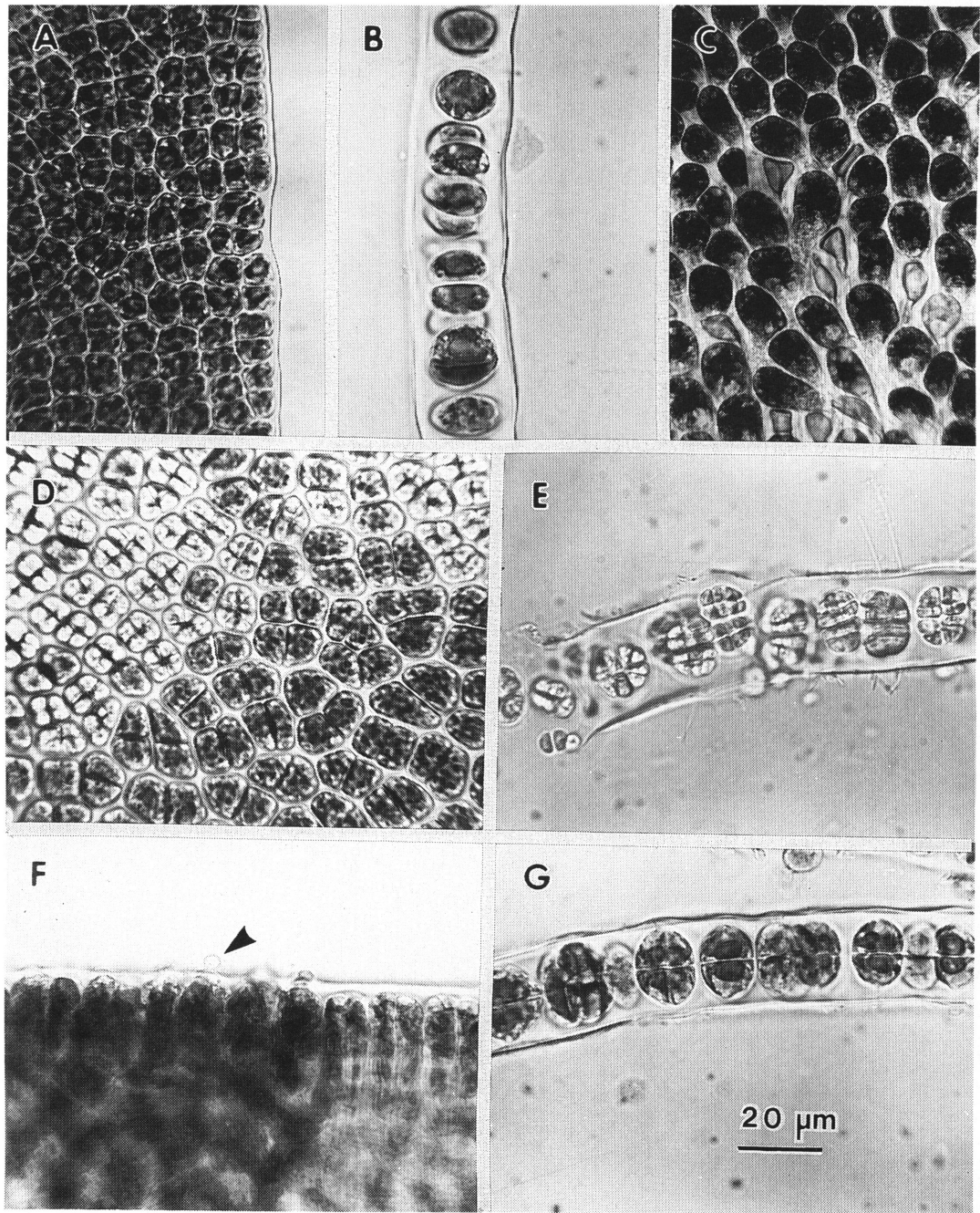


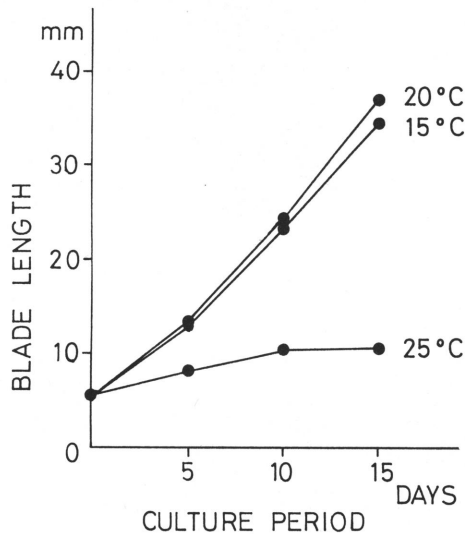
Fig. 4. Surface and transverse views of leafy thalli of *P. lacerata* cultured in laboratory.

- A : Marginal region of vegetative thalli without dentation.
- B : Cross section of vegetative cells.
- C : Surface view of basal region with rhizoidal cells.
- D : Surface view of antheridial cells.
- E : Cross section of antheridial cells.
- F : Carpogonium with trichogynes and a sperm (arrowhead).
- G : Cross section of carposporangium.

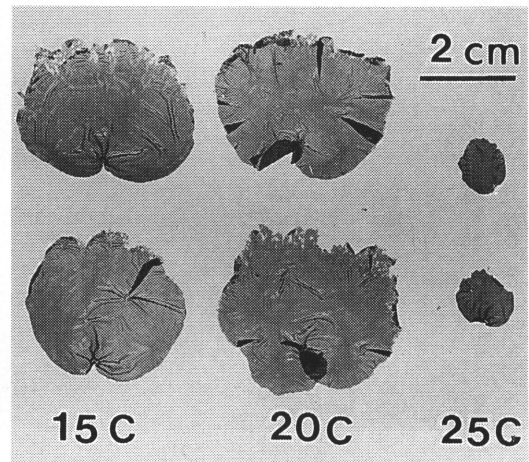
Scale in G applies also to F.

15, 20, 25°Cの温度別の培養実験では, 初期より 25°Cで培養したものでは単胞子のみを形成し, 15, 20°Cでは成長とともに単胞子形成と造精子形成が同時に観察された。25°Cでは有性生殖細胞はほとんど形成されず, 盛んに単胞子を放出し, そのため体の伸長はほとんど止まった。3段階の温度での培養による成長の比較を Fig. 5—A, B に示したが, 15°Cと

20°Cではわずかに20°Cで成長が良かったが, 25°Cの高温では明らかに成長が抑制され, 単胞子形成が促進された。葉体の単胞子は他のアマノリ同様に葉縁部で形成されるが, 本種はかなり広範囲の細胞があめ色に変色し, 単胞子化した部分は普通の栄養細胞部と明確に識別された (Fig. 6—A)。やや低温の 15, 20°C培養では, 多数の造精子細胞が形成され



A : Growth of leafy thalli under different temperatures.



B : Twenty-five-day-old thalli grown under different temperatures.

Fig. 5. Impact of temperature on growth of leafy thalli of *P. lacerata*.

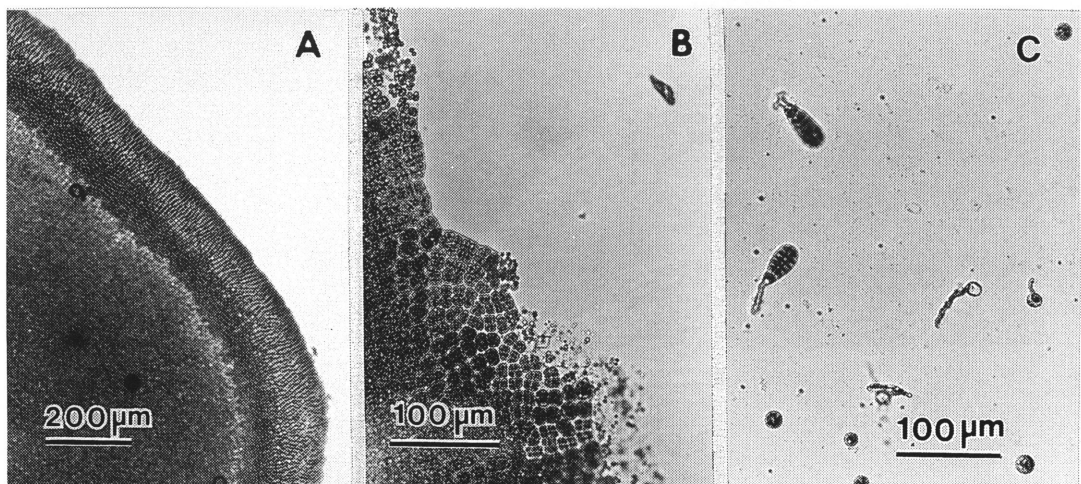


Fig. 6. Impact of temperature on induction of reproductive cells.

A : Monosporangium in marginal region of a thallus cultured under 25°C.

B : Matured antheridium of a thallus cultured under 20°C.

C : Germlings of monospores and carpospores derived from the same thallus cultured under 20°C.

(Fig. 6-B), 単孢子とともに果孢子が放出された。そのため同一葉体から放出された孢子で、糸状の果孢子発芽体と、葉体になる単孢子発芽体が同時にみられた (Fig. 6-C)。

#### 染色体数

核染色による観察では、葉体の栄養細胞で分裂前期の終わりで2個の染色体がみられ (Fig. 7-A), また造精器内の精子形成時にも染色体は2個で (Fig. 7-B),  $n = 2$  であった。一方、果孢子発芽体の最初の核分裂では4個の染色体がみられ (Fig. 7-C), 殻孢子囊枝でも4個で (Fig. 7-D),  $2n = 4$  と数えられた。

#### 考 察

ヤブレアマノリの糸状体の形態は、細胞の太さは、長さや成長法など、従来報告された養殖ノリや他の岩ノリの種類と比べ、特に差異は認められなかった。また、貝殻穿孔糸状体の成長は、対照のスサビノリと大差がなかったが、糸状体の殻孢子囊形成の多い温度は25-27.5°Cで、スサビノリ、アサクサノリ<sup>3)</sup>の20-25°Cよりやや高く、タネガシマアマノリ<sup>4)</sup>の27.5-30°Cよりやや低い傾向がみられた。

殻孢子の発芽葉体の成長は、15, 20°Cで良好であっ

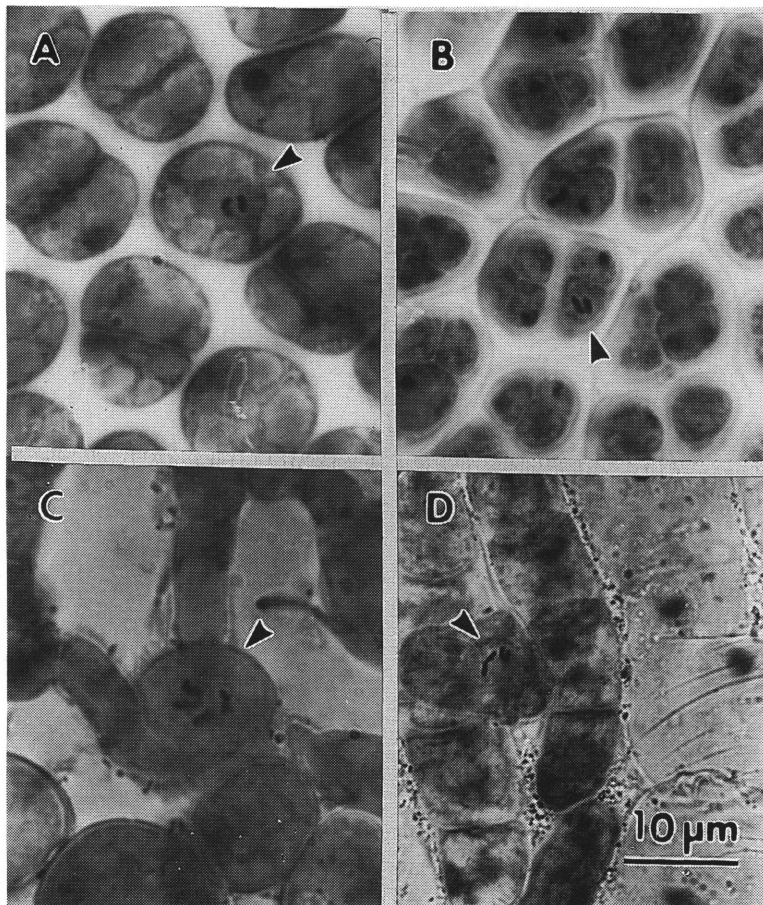


Fig. 7. Chromosomes of *P. lacerata*.

- A : Vegetative cell division of leafy thallus, showing two chromosomes (arrowhead).
- B : Cell division in antheridium, showing two chromosomes (arrowhead).
- C : First division of carpospore germling, showing four chromosomes (arrowhead).
- D : Cell division of conchospoangium, showing four chromosomes (arrowhead).

Scale in D applies also to A-C.

たが、25°Cでは不良であって、これは高温では常時単胞子を放出するためと観察された。15、20°Cの培養では、単胞子の形成が少なく良く成長し、約1ヶ月後、体長1 cm前後には雌雄細胞が形成され、単胞子、果胞子が同時に形成、放出されることが多くみられた。ヤブレアマノリの場合、単胞子を形成し無性生殖を行う条件には温度が大きく影響しているとみられる。また、同時期に雌雄生殖細胞と単胞子が形成される成熟過程はこれまでスサビノリ、マルバアサクサノリなどで報告されているが<sup>5)</sup>、ヤブレアマノリではそれが温度と深い関係があることが明らかとなった。

室内通気培養で大きく成長したものは体長4—9 cmに達したが、色は青味を帯びた赤紫色であり、成熟すると雄の生殖細胞が繻状に形成されるため、精子放出後は藻体は縦に裂け、天然藻体と同様な裂葉をもつ藻体となった。葉体の生殖器官の分裂様式は、Miuraの報告<sup>1)</sup>と同じく、造精子で64(a/4, b/4, c/4)、囊果で4(a/1, b/2, c/2)であり、これはマルバアサクサノリ<sup>9)</sup>と同じ分裂様式である。マルバアサクサノリも、黒木<sup>5)</sup>によれば葉体はしばしば基部まで深く裂け2、3ないし数個の裂片からなるものもあるとされ、形態的にヤブレアマノリに類似していると考えられる。

また、ヤブレアマノリの葉体の厚さは栄養細胞部分で20—25μmであり、Miura<sup>1)</sup>の記載の14μmよりやや厚かったが、他のアマノリ類と比べかなり薄く、これは本種の特徴の一つとみなされる。

室内培養によって完結したヤブレアマノリの生活史は、アマノリ属の雌雄同株の他の種類と同様であることが明らかとなった。

本種の染色体数は $n=2$ 、 $2n=4$ であった。日本産アマノリ属各種の染色体数は $n=2$ から $n=6$ まで報告されているが、アサクサノリ<sup>7-10)</sup>、スサビノリ<sup>11,12)</sup>など $n=3$ のものが一般に多い。 $n=2$ はこれまでわずかにマルバアマノリ<sup>10)</sup>、マルバアサクサノリ<sup>13)</sup>の報告があるだけで、これらも鬼頭<sup>9)</sup>は $n=3$ としており、本種のような $n=2$ の種はまれであると考えられる。

本研究で得られたヤブレアマノリの種々の特徴、縦に裂ける外部形態、雌雄生殖細胞の分裂様式、単胞子と造果器の混在などは、マルバアサクサノリと良く類似している。両種の相違については形態や生態的な特徴をさらに今後検討する必要があると思われる。

## 引用文献

- 1) Miura, A. (1967): Two new species and a new record of *Porphyra* from Enoshima, Sagami Bay. J. Tokyo Univ. of Fish. 53, 65-71.
- 2) Wittman, W. (1965): Aceto-iron-haematoxylin-chloral hydrate for chromosome staining. Stain Technol., 40, 243-253.
- 3) 黒木宗尚, 秋山和夫(1966): 数種のアマノリの糸状体の生長・成熟と水温, 東北水研研究報告, (26), 77-89.
- 4) 右田清治, 伊藤龍星(1987): 培養によるタネガシマアマノリの生活史, 長崎大学水産学部研究報告, (61), 7-14.
- 5) 黒木宗尚(1961): 養殖アマノリの種類とその生活史(アマノリ類の生活史の研究 第2報), 東北水研研究報告, (18), 1-115.
- 6) 黒木宗尚 (1957): 養殖ノリの種類, 水産増殖, 4(4), 21-28.
- 7) Ishikawa, M. (1921): Cytological studies on *Porphyra tenera* Kjellm. I. Bot. Mag. Tokyo, 35: 206-218.
- 8) 鬼頭 均(1968): アマノリ属数種の細胞学的研究, III. アサクサノリの染色体数について, 東北水研研究報告, (28), 137-140.
- 9) 鬼頭 均(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.
- 10) Yabu, H. (1969): Observation on chromosomes in some species of *Porphyra*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 19, 239-243.
- 11) Yabu, H. and Tokida, J. (1963): Mitosis in *Porphyra*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 14, 131-136.
- 12) Migita, S. (1967): Cytological studies on *Porphyra yezoensis* Ueda. Bull. Fac. Fish., Nagasaki Univ., (24), 55-64.
- 13) Yabu, H. (1971): Observation on chromosomes in some species of *Porphyra*, II. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 21, 253-258.