紅藻フイリタサの生活史におよぼす温度と光周期の影響

能登谷正浩, 菅原守雄

(1998年2月18日受付)

Influence of Temperature and Photoperiod on the Life History of
Porphyra variegata (Kjellman) Kjellman (Bangiales, Rhodophyta) in Culture

Masahiro Notoya* and Morio Sugawara*

Life history of *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman was completed in culture from Ken-nich, Hokkaido, Japan. Growth and reproduction of both foliose phase and conchocelis phase were observed at various temperatures (5, 10, 15, 20, and 25°C) with a photon flux density of $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ under photoperiods (14L:10D and 10L:14D). The optimum growth of the conchocelis filaments occurred at 10°C. Conchocelis filaments produced conchosporangial branches after 6-9 weeks at 5°C and 10°C under a short photoperiod of 10L:14D. Conchospores were released in great numbers from the conchosporangia at 10°C under short photoperiods of 10L:14D and 8L:16D. Conchospore germings developed into the foliose thallus and reached to 1-5 cm in length after 3-5 months at 5°C and 10°C under long and short photoperiods. The foliose thallus produced only sexual spores as zygospores. Reproductive organs were not produced from small globular thalli at 15°C. Asexual spores were not produced from the foliose thallus.

キーワード: フイリタサ, 生活史, 温度, 光周期

Cole and Conway¹⁾はカナダ産の *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman を培養し、その生活史を観察すると共に、糸状体から protothallus が形成されることや、その栄養細胞が孢子 (protoplast) として放出され、発芽すると葉状体 (配偶体) になるという無性的な生殖様式を持つことを報告した。日本産の *P. variegata* (Kjellman) Kjellman フイリタサについては、これまで分類学的観察²⁻⁸⁾や、生物季節学的観察⁹⁾などについて報告されているが、室内培養による詳細な生活史の観察や、糸状体や葉状体の生長や成熟におよぼす温度や光周期の影響について観察した報告はない。本研究では北海道南茅部郡見日産の藻体を用いて、室内培養下で生活史を完結させると共に、糸状体や葉状体の生長や成熟におよぼす温度や光周期の影響を調べたので報告する。

材料と方法

フイリタサの成熟藻体 (Fig. 1A) は北海道南茅部郡見日で1991年5月16日に採集した。これより接合孢子¹⁰⁾ (zygospore¹¹⁾) を得て滅菌処理したカキ殻を基質として糸状体を培養し、保存した。この保存株から無

基質糸状体を分離、増殖させた後、ミキサーを用いて長さ約 200 μm の糸状体断片にした。これを糸状体懸濁液として滅菌海水で満たしたシャーレ内のカキ殻上に滴下して 10°C, $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 10L:14D の下で2日間静置培養し、糸状体がカキ殻に着定するのを待った。その後、温度 5, 10, 15, 20, 25°C と光周期 14L:10D (長日) と 10L:14D (短日) を組み合わせた合計 10 条件下で培養を開始した。糸状体の付着したカキ殻は 50 ml 容ねじ口瓶にクレモナ糸でつり下げ、カキ殻表面が光量 $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ となるようにして培養した。糸状体の生長や成熟については1週間ごとに顕微鏡下で糸状体コロニーを任意に 40 個体選び、その直径を測定すると共に殻胞子嚢の形成の有無について観察した。

殻胞子の放出におよぼす温度と光周期の影響を知るため、5°C および 10°C 下で成熟した殻胞子嚢枝をもつ糸状体を、温度を 5°C と 10°C, 光周期を 16L:8D, 14L:10D, 10L:14D および 8L:16D を組み合わせて1週間静置培養した後、殻胞子放出量を観察した。

葉状体の生長と成熟は、滅菌海水で満たしたシャーレ内のカキ殻上に成熟した殻胞子嚢枝をもった糸状体を置

* 東京水産大学応用藻類学研究室 (Laboratory of Applied Phycology, Tokyo University of Fisheries, Konan-4, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan).

き, 10°C , $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 8L:16D 下で2日間静置培養し, 放出された殻胞子がカキ殻へ付着したのを確認した後, 殻胞子の付着したカキ殻を 300 ml 容枝付きフラスコ内にクレモナ糸でつり下げ, 通気培養した。培養は光量を $40\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$ とし, 温度を 5, 10, 15, 20, 25°C の 5 条件, 光周期を 14L:10D (長日) と 10L:14D (短日) の 2 条件を組み合わせた合計 10 条件下で行った。葉状体の生長および成熟の観察は 1 週間ごとに大きな葉状体から順に 10 個体を選んで葉長および葉幅を測定すると共に, 原胞子¹⁰⁾ (archeospor¹²⁾) の

放出や精子または接合胞子囊¹⁰⁾形成の有無を観察した。いずれの培養にも培養液は Grund 改変培地¹³⁾を用い, 1 週間ごとの観察時に交換した。

結 果

生活史: 糸状体は, 25°C の下では生育できず 2-3 日後には枯死した。5- 20°C の下では, 分枝しながら生長して次第にコロニーを形成した (Fig. 1B)。中でも 10°C の短日下で最も速く生長して培養 7 週目にはコロニーの直径が約 2 mm に達し, 9 週目には糸状体コロニ

Fig. 1. Life history of *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman in culture.

(A) Foliose thallus collected at Ken-nichi, Minami-kayabe, Hokkaido, Japan on May 16, 1991. (B) Conchocelis filaments of 3 weeks old at 10°C and 14L:10D. (C) Conchosporangial branches of 9 weeks old conchocelis at 10°C and 10L:14D. (D) Just liberated conchospore. (E) Conchospore germling of 3 days old at 10°C and 14L:10D. (F) Conchospore germling of 2 weeks old at 10°C and 14L:10D. (G) Surface view of antheridia. (H) Transverse section of antheridia. (I) Surface view of zygotosporangium. (J) Transverse section of zygotosporangia. (K) Surface view of zygotosporangial clusters on matured female parts. (L) Matured foliose thalli of 24 weeks old at 5°C and 14L:10D. (M) Matured foliose thalli of 7 weeks old at 10°C and 14L:10D. (N) Small globular thalli of 4 weeks old at 15°C and 14L:10D. Scale bars: A, 5 cm; B and K, 200 μm ; C and F-J, 100 μm ; D and E, 50 μm ; N, 500 μm .

一の約半数が殻胞子囊枝を形成し、10週目にはほとんどの糸状体コロニーに殻胞子囊枝が認められた (Fig. 1C)。放出直後の殻胞子は直径10–15 μm の球形で、暗赤色の明瞭な星状色素体を1個もっていた。(Fig. 1D)。殻胞子は2極性の発芽によって直立型の発生を示した。10°Cの長日条件下では、培養1日後には殻胞子は球形のまま分裂して2細胞になったが、仮根の伸長は認められなかった。培養3日後には4細胞となり、一般には仮根が伸長した反対側の細胞が既に左右2細胞に分裂した (Fig. 1E)。しかし、発芽体のなかには4細胞が縦に配列するものや両極から仮根が伸長する発芽体も極少数認められた。殻胞子発芽体は、培養2週目には仮根を除くとほぼ円形の葉状体となり、葉長約160 μm に達した。また、この時期には既に左右の細胞群の間に不明瞭ではあるが、区分が認められた (Fig. 1F)。葉長約5 mmに達する頃には、葉状体の中央部の栄養細胞で、葉状体表面に平行な分裂によって2層細胞となったが、所々の細胞では分裂せずに1層細胞のままの場合も見られた。培養7週目には葉長約7 mmに達し、葉状体のほぼ縦半分の片側に精子囊斑の形成が認められ (Fig. 1G & H)、他の片側の栄養細胞部分の所々に造果器の形成が認められた。その後、培養10週目頃までに精子囊形成部分は精子の放出にともなって次第に流出したが、培養11週目 (葉長約2.2 cm) には残った約半分の葉状体の所どころに接合胞子囊 (Fig. 1I & J) が形成された。接合胞子囊形成部分以外の栄養細胞は次第に白色となって枯死したため、接合胞子囊群は暗紅色の明瞭な斑紋として観察された (Fig. 1K)。精子囊の分裂表式は64 (a/4, b/4, c/4)、接合胞子囊のそれは16 (a/2, b/2, c/4) であった。放出された接合胞子は直径15–20 μm の暗赤色の球形であった。接合胞子はスライドグラスに付着した後、発芽管を伸長させて胞子内の色素体に移行して糸状体に生長した。葉状体からの無性胞子や、その他の無性的な繁殖様式は認められなかった。

糸状体と葉状体の生長や成熟におよぼす温度と光周期の影響：光量を40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ とし、温度 (5–20°C) と光周期 (14L:10D と 10L:14D) を組み合わせた条件下で培養した糸状体の生長を Fig. 2 に示した。糸状体は温度5–20°Cの下では生長したが、25°Cの高温下では培養1週間以内に枯死した。生長は10°Cの短日下で最も速く、培養7週目には糸状体コロニーの直径は約2 mmに達し、培養10週後には直径約1.4–1.6 mmに達した。10°C下に次いで長日および短日下ともに15°C、20°C、5°Cの順に速い生長傾向が見られたが、殻胞子囊枝の形成は5°Cと10°Cの短日下でのみ認められた。殻胞子囊枝の形成率 (Fig. 3) は5°Cの下で早く、培養6週目には糸状体コロニーの約35%に形成され、

Fig. 2. Growth of conchocelis in *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman at various temperatures with a photon flux density of 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ under photoperiods of 10L:14D and 14L:10D.

C, beginning of the formation of conchosporangial branch. Vertical bars, standard deviations.

Fig. 3. Formation of conchosporangial branch in *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman at temperatures of 5°C and 10°C with a photon flux density of 40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ under a photoperiod of 10L:14D.

8週目にはすべての糸状体コロニーに認められた。10°C下では5°C下に比べて3週間遅れ、培養9週目に約50%、10週目に100%に達した。

殻胞子の放出は短日下でのみ認められ、放出量は5°C下より10°C下の方が多かった。また、5°C下で形成された殻胞子囊を10°C下に移して培養した場合に多量の放出が観察された。さらに、10°C下で形成された殻

Fig. 4. Growth of foliose thalli in *Porphyra variegata* (Kjellman) Kjellman at temperatures of 5°C and 10°C with a photon flux density of $40 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ under photoperiods of 10L:14D and 14L:10D. S, beginning of the formation of spermatangium; Z, beginning of the liberation of zygote spore. Vertical bars, standard deviations.

胞子嚢を同じ温度の異なる日長下で培養した場合は、10L:14Dと8L:16Dの短日下でのみ殻胞子の放出が観察され、8L:16D下でより多くの放出量が認められた。

殻胞子発芽体は、20°C下では10L:14Dと8L:16Dとも培養1週間以内に枯死したが、5–15°Cの下では両光周期下とも生育した。しかし、15°C下では両光周期下とも葉状とはならず小さな塊状の体となったが (Fig. 1N)、雌雄の生殖器官や原胞子などは形成されなかった。5°Cと10°C下では両光周期下ともに葉状体に生長した (Fig. 4)。葉状体の生長および成熟は10°Cの長日下で最も速く、培養7週目に葉長約7 mmに達して精子嚢の形成が認められ、培養11週目には葉長約2.2 cmに達して接合胞子嚢が形成された (Fig. 1M)。短日下では培養9週目に精子嚢が形成され、培養12週目には葉長約1.5 cmに達し、長日下の葉状体の約1/2の小型の体であったが、接合胞子嚢の形成が見られた。接合胞子放出後は葉状体の全体が白色となり枯死した。5°C下では10°C下より生長は遅れたが、大型の葉状体になり、長日下では培養24週目に葉長約5 cmに (Fig. 1L)、短日下では葉長約4 cmに達した。いずれの条件下の藻体も接合胞子放出後には葉状体全体が白くなって枯死した。

考 察

本培養では3回にわたって生活環を観察したが、葉状体からの原胞子や糸状体からの単胞子¹⁰⁾ (monospore¹⁴⁾) などの無性的な繁殖様式は認められず、Cole and Conway¹⁾が報告した葉状体からの原胞子や糸状体からの単胞子の放出やprothallusの生長は認められなかった。従って、本藻は雌雄同株の葉状体と糸状体との異型世代交代を行うものと考えられる。

本種と同様に雌雄の生殖細胞を葉状体の正中線を境に形成する *P. purpurea* では、減数分裂が殻胞子発芽時の4細胞期に起こり、同時に性決定がなされることを Mitman and van der Meer¹⁵⁾が報告した。本種の殻胞子の初期の発生過程でも、既に4細胞期に仮根と反対側の細胞分裂で左右に2つの細胞が形成されることが認められ (Fig. 1E)、培養2週目の発芽体には、不明瞭ではあるが正中線を境に左右の2つの細胞群に別れていることが見られるため (Fig. 1F)、*P. purpurea* と同様に、発生初期の4細胞期に減数分裂が行われて左右に雌雄の葉状体が区分されるものと看做される。しかし、正確には今後染色体の詳細な観察によって解明する必要がある。

これまで室内培養によって明らかにされている日本産アマノリ属の種の糸状体や葉状体の生長や成熟の至適水

温は20-25°Cであり、種の分布、生育する環境水温とほぼ対応することが知られているが、¹⁶⁻²²⁾ 本種の糸状体のそれでは10°C下で、葉状体では10°C以下で良く生長した。この温度はこれまでの種に比べ最も低い温度であるが、本種の生育分布や時期⁹⁾のそれとよく一致している。

比較的温暖な海域に生育するアマノリ類の葉状体は一般に秋から冬の短日下に生育するが、室内培養の結果では、長日下の方が短日下より生長や成熟が早いことがこれまでアサクサノリ²²⁾やヤブレアマノリ²⁰⁾で知られている。本種の場合もこれと同じ傾向が見られ、即ち10°Cの長日下で早く生長し、成熟することが分かった。従って、葉状体の生育は、この時期の日長ではなく水温に適応しているものと看做される。

本種の天然藻体は葉長10-40 cm、葉幅4-20 cmに達することが報告されているが、⁷⁾ 本培養藻体では5°C下で最も大型の葉長約5 cmとなり、10°C、15°Cと温度が上昇するのに伴って小型または塊状となった。また、本種の生育する室蘭付近では、葉状体の出現時期は3月から4月で水温は2.5-4°Cと報告されている。⁹⁾ 従って、より低温下での培養では天然藻体と同様に大型になるものと看做される。

文 献

- 1) K. Cole and E. Conway: Studies on the Bangiaceae: Reproductive modes. *Bot. Mar.*, **23**, 545-553 (1980).
- 2) 殖田三郎: 日本産あまのり属の分類学的研究. 水産講習所研究報告, **28**, 1-45 (1932).
- 3) 中村義輝: フィリタサ特にその雌性體に就て. 植維, **60**, 39-43 (1947).
- 4) 福原英司: フィリタサの生活環に関する二, 三の知見. 北水試月報, **16**, 3-7 (1959).
- 5) 福原英司: フクロタサ, ベニタサ, タサおよびフィリタサの付着器官とその構造. 北水試月報, **17**, 38-40 (1960).
- 6) 福原英司: 北海道産のアマノリについて. 北水試月報, **20**, 9-25 (1963).
- 7) 福原英司: 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. 北水研究報告, **34**, 40-99 (1968).
- 8) M. Kurogi: Observations on the type specimen of *Porphyra variegata* (Kjellman) Hus and its comparison with Japanese "*Porphyra variegata*". *Bull. Jap. Soc. Phycol.*, **25**, 101-112 (1977).
- 9) T. Shimizu: Taxonomic studies on *Porphyra variegata* (Kjellman) Hus and *P. tenuitasa* Fukuhara (Bangiales, Rhodophyta). *Jap. J. Phycol.*, **31**, 229-237 (1983).
- 10) M. Notoya: Diversity of life history in the genus *Porphyra*. *Nat. Hist. Res., Special Issue*, **3**, 47-56 (1997).
- 11) M. D. Guiry: Sporangia and spores. in "Biology of the Red Algae" (ed. by K. M. Cole and R. G. Sheath), Cambridge University Press, New York, 1990, pp. 347-376.
- 12) F. Magne: Classification and phylogeny in the lower Rhodophyta: a new proposal. *J. Phycol.*, **27**, 46 (1991).
- 13) J. McLachlan: Growth media-marine, in "Handbook of Phycological Methods" (ed. by J. R. Stein), Cambridge Univ. Press, New York, 1973, pp. 25-51.
- 14) L. C.-M. Chen, T. Edelstein, E. Ogata, and J. McLachlan: The life history of *Porphyra miniata*. *Can. J. Bot.*, **48**, 385-389 (1970).
- 15) G. G. Mitman and J. P. van der Meer: Meiosis, blade development, and sex determination in *Porphyra purpurea* (Rhodophyta). *J. Phycol.*, **30**, 147-159 (1994).
- 16) 右田清治, 伊藤龍星: 培養によるタネガシマアマノリの生活史. 長崎大水産学部研究報告, **61**, 7-14 (1987).
- 17) 飯間雅文, 右田清治: 紅藻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 (1990).
- 18) 能登谷正浩, 菊池則雄, 有賀祐勝, 三浦昭雄: 紅藻ウタスツノリの培養. 藻類, **40**, 273-278 (1992).
- 19) 能登谷正浩, 菊池則雄, 有賀祐勝, 三浦昭雄: 紅藻カイガラアマノリの室内培養. *La mer*, **31**, 125-130 (1993).
- 20) M. Notoya, N. Kikuchi, M. Matsuo, Y. Aruga, and A. Miura: Culture studies of four species of *Porphyra* (Rhodophyta) from Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **59**, 431-436 (1993).
- 21) 松尾雅志, 能登谷正浩, 有賀祐勝: 紅藻マルバアマノの室内培養. *La mer*, **32**, 57-63 (1994).
- 22) 岩崎英雄: アサクサノリの生理・生態に関する研究. 広島大学水畜産学部紀要, **6**, 133-211 (1965).