

合成アブシジン酸によるスサビノリ殻胞子の 放出促進効果および放出数増大効果について

井手 浩美・徳田 眞孝
(有明海研究所)

植物生長調整物質である合成アブシジン酸について、スサビノリ *Pyropia yezoensis* の殻胞子の放出促進効果および放出数増大効果を検討した。アブシジン酸を調整した培養海水を使用することにより、殻胞子の放出開始が早まり、放出数は増大した。さらに、殻胞子の放出に不適な高水温下でも、多量の殻胞子が放出されることが認められた。アブシジン酸によるノリの幼芽の生長阻害は認められず、アブシジン酸の殻胞子の放出促進効果および放出増大効果とその実用性を確認した。

キーワード：スサビノリ，殻胞子，合成アブシジン酸，高水温

福岡県有明海区のノリ養殖は、漁場に立てた支柱に張ったノリ網の下に、カキ殻を基質として十分に育成させた穿孔糸状体（カキ殻糸状体）を入れた採苗用ポリ袋を吊り下げ、糸状体から放出される殻胞子をノリ網に着生させる野外採苗を行っている。殻胞子の放出は海水温23℃台で促進されるため¹⁾、福岡県有明海区のノリ養殖では、海水温の低下を考慮して、採苗日が決定され、漁業者は、採苗日に殻胞子が放出されるように、約2週間かけて殻胞子囊の熟度の調整を行う。しかし、採苗日まで海水温が23℃台に低下しなかった場合、採苗において殻胞子の放出の鈍化による採苗の遅れや着生数の減少がみられる。これらは、ノリの生産期間の短縮や収量の減少に繋がるため、高水温下でも殻胞子放出を促す技術の開発が求められる。農業の分野では、植物生長調整物質による農作物への熟度促進効果は実証されているものの²⁾、ノリ養殖に関する知見は、2,4-ジクロロフェノキシ酢酸、ベンジルアミノリプリンによる葉体組織片の生長への影響³⁾や、エテホンによる殻胞子放出数増大に関する報告⁴⁾に限られており、殻胞子囊の熟度や殻胞子の放出に対する、植物生長調整物質のノリへの作用性は不明な点が多い。本研究に先立ち、予備試験として、植物生長調整物質のうち、パラクロロフェノキシ酢酸を有効成分とするトマトーン、ジベレリンを有効成分とするジベレリン協和粉末、エテホンを有効成分とするエテホン標準品、アブシジン酸を有効成分とする合成アブシジン酸（以下、アブシジン酸）を用いてノリ殻胞子囊に対する熟度促進効果を検証した結果、アブシジン酸で最も熟

度促進効果が認められたため⁵⁾、本研究は、殻胞子囊の熟度促進に伴う殻胞子放出に関する効果の詳細を把握することと、その効果を高水温下での採苗に応用することを目的とした。

1. アブシジン酸による殻胞子の放出促進効果および放出数増大効果試験

方 法

試験に用いた糸状体は、福岡有明海漁業協同組合連合会が種苗登録し、養殖の普及を図っているスサビノリ品種「福有」のフリーリビング糸状体をミキサーで細断したのち、大きさ1 cm × 1 cmに切断したマドガイ *Placuna placenta* の殻に蒔き付け、マドガイ殻穿孔糸状体（以下、マドガイ殻糸状体）として作成した。福岡県有明海区の養殖現場では、カキ殻を基質として穿孔糸状体を培養しているが、カキ殻は厚みのばらつきが大きく、糸状体から形成される殻胞子囊の形成量が一定しないため、試験では、形状が扁平で厚さが均一であり、一定の大きさへの裁断が容易であるマドガイ殻を基質に使用した。マドガイ殻糸状体は、地先海水（塩分30）1 Lに対しNPM培地原液（表1）を2 ml加え、0.2 μmのメンブランフィルター（Thermo Fisher Scientific社）で濾過滅菌した培養液を用い、水温18℃、光強度100 μmol m⁻²s⁻¹、光周期11時間明期：13時間暗期で1カ月間静置培養した後、水温27℃、光強度20 μmol m⁻²s⁻¹、13時間明期：11時間暗期で2カ月間静置培養し、十分に殻胞子囊を形成させ、試験に供し

た。

試験では、予めガラス板（1.8cm × 1.8cm、厚さ 1 mm）を敷いた管瓶（直径2.6cm × 高さ 9 cm）に、合成アブシジン酸（東京化成工業）を用いて、0.2μm のメンブランフィルターで濾過滅菌した地先海水のアブシジン酸濃度を 1 ppm、5 ppm、10ppm、100ppm に調整した培養液を入れたものを試験区、アブシジン酸を使用しないものを対照区として設定し、マドガイ殻糸状体の中央に直径0.5mm の穴を開け、線径0.45mm のステンレス製の針金を通してシリコ栓に装着し、管瓶の底から直上 2 cm の高さになるよう閉栓して吊り下げた。これを、殻胞子嚢の熟度が促進され、殻胞子が放出される水温18℃、光強度100μmol m⁻²s⁻¹、11時間明期：13時間暗期の条件下で 2 週間培養した。

放出殻胞子数は、培養 5 日目以降の明期 5 時間経過後に、ガラス板に沈着した殻胞子を、落射蛍光装置付き生物顕微鏡（ECLIPSE50i、ニコンインステック）を用いて、波長490nm、励起強度50%で照射したうえで、顕微鏡用デジタルカメラ（FLOYD、レイマー）を用いて、倍率100倍でガラス板の中央部と、中央 1 cm 角の 4 角の計 5 箇所を撮影し、画像内の殻胞子数の平均値を 1 cm 当りに換算して求めた。

結 果

アブシジン酸濃度別の殻胞子放出数の推移を図 1 に示した。試験区、対照区ともに培養 6 日目から殻胞子の放

表 1 NPM培地原液の組成

成分	分量
蒸留水	1 L
NaNO ₃	35g
グリセロリン酸Na	5 g
P I メタル（クレワット32）	11.3g

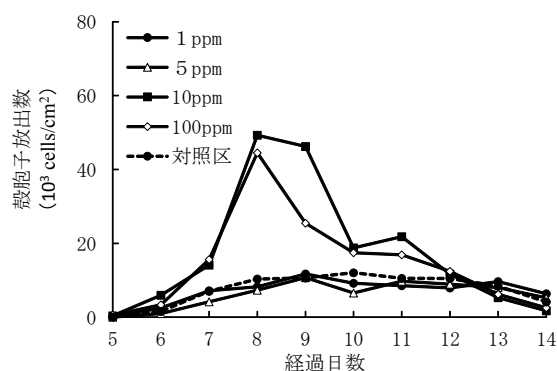


図 1 アブシジン酸濃度別の殻胞子放出数の推移

出が確認され、14日目まで継続した。アブシジン酸濃度 1 ppm 区、5 ppm 区、対照区では、6 日目から 9 日目まで、殻胞子放出数は微増傾向であり、1 ppm 区、5 ppm 区は 9 日目、対照区は10日目に最大となった。殻胞子放出数の最大値は、1 ppm 区で11,750cells/cm²、5 ppm 区で10,696cells/cm²、対照区で10,613cells/cm²であった。10ppm 区、100ppm 区は、7 日目から増加傾向が見られ、8 日目に最大となった。殻胞子放出数の最大値は10ppm 区で49,282cells/cm²、100ppm 区で44,531cells/cm²であった。

試験期間中のアブシジン酸濃度別の殻胞子総放出数を図 2 に示した。殻胞子総放出数はアブシジン酸濃度 1 ppm 区で71,430cells/cm²、5 ppm 区で61,786cells/cm²、10ppm 区で175,258cells/cm²、100ppm 区で145,105cells/cm²、対照区で75,162cells/cm²であった。10ppm 区、100ppm 区と対照区間の殻胞子総放出数の差は有意であった（ $p < 0.05$, t 検定）。

2. アブシジン酸の実用性の把握

方 法

1. の試験の結果から、アブシジン酸は10ppm で最も効果が高いと判断されたため、10ppm の条件下で、アブシジン酸の使用開始時期の違いによる殻胞子放出効果と、アブシジン酸の使用がノリ発芽体に与える影響について検討した。

(1) 使用開始時期別の殻胞子放出効果

アブシジン酸濃度を10ppm に調整した培養液を試験開始日（1 日目）、4 日目、7 日目から使用した試験区、アブシジン酸を使用しない対照区を、1. の試験と同様の方法でマドガイ殻糸状体を14日間培養し、培養 5 日目から14日目まで殻胞子放出数を計数した。なお、7 日目については、殻胞子放出数の計測後にアブシジン酸を調

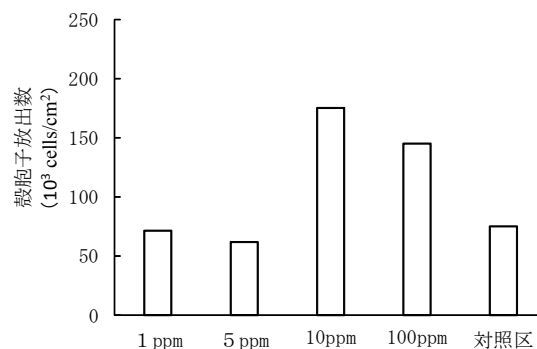


図 2 アブシジン酸濃度別の殻胞子総放出数

整した培養液を使用した。

(2) アブシジン酸のノリ発芽体への影響

アブシジン酸濃度を10ppm に調整した培養液を使用した試験区、アブシジン酸を使用しない対照区を、1. の試験と同様の方法で、マドガイ殻糸状体を10日間培養後、放出された殻胞子をクレモナ単糸に着生させた。これを300ml 丸底フラスコに移し、1/2 SWM-III 改変培地（表2）を0.2 μ m のメンブランフィルターで濾過滅菌した培養液を用いて、水温18℃、光強度100 μ mol m⁻²s⁻¹、光周期11時間明期：13時間暗期の条件下で、5日間通気培養を行い、生物顕微鏡で発芽体の分裂状況を観察した。

結 果

(1) 使用開始時期別の殻胞子放出効果

アブシジン酸使用開始時期別の殻胞子放出数の推移を図3に示した。殻胞子は、1日目区、7日目区で6日目、4日目区、対照区で7日目から放出が確認され、すべて14日目まで継続した。放出数は、1日目区で8日目、7日目区で9日目、4日目区で10日目、対照区で11日目に最大となった。殻胞子放出数の最大値は、1日目区で49,282cells/cm²、4日目区で63,994cells/cm²、7日目区で38,798cells/cm²、対照区で23,398cells/cm²であった。

アブシジン酸使用時期別の殻胞子総放出数を図4に示した。殻胞子総放出数は、1日目区で175,076cells/cm²、4日目区で199,580cells/cm²、7日目区で169,265cells/cm²、

対照区で83,792cells/cm²であった。各試験区と対照区間の殻胞子総放出数の差は有意であった（ $p < 0.05$, t 検定）。

(2) アブシジン酸のノリ発芽体への影響

殻胞子の発芽状況の経過を観察した結果、試験区、対照区ともに、着生後1日目に2細胞、2日目に4細胞、5日目に縦列細胞分裂が認められた。また、発芽体の形態に異常は見られなかった（図5）。

3. 高水温下におけるアブシジン酸の効果の把握

方 法

(1) 高水温下における殻胞子の放出促進効果

殻胞子の放出が完全に抑制される水温27℃[®]における、アブシジン酸の殻胞子放出促進効果を把握するために、アブシジン酸濃度を10ppm に調整した培養液を使用した試験区、アブシジン酸を使用しない対照区を、1. の試験と同様の方法で、マドガイ殻糸状体を水温27℃、光強度100 μ mol m⁻²s⁻¹、11時間明期：13時間暗期の条件下で14日間培養し、殻胞子放出数を培養5日目から14日目まで計数した。

(2) 水温を途中で上昇させた場合における殻胞子の放出促進効果

アブシジン酸を使用した熟度調整による高水温採苗時の殻胞子放出促進効果を把握するため、アブシジン酸濃度を10ppm に培養液を使用した試験区、アブシジン酸を使用しない対照区を、1. の試験と同様の方法で、マドガイ殻糸状体を水温18℃、光強度100 μ mol m⁻²s⁻¹、11時間明期：13時間暗期の条件下で8日間培養した後、高水温の漁場への展開を想定して、水温を27℃へ上昇させ、2日間培養し、殻胞子放出数は18℃培養8日目と27℃培養2日目まで計数した。

表2 1/2 SWM-III 改変培地の組成

成分	分量
海 水	1 L
NaNO ₃ (1.0M)	1 ml
Na ₂ HPO ₄ (50mM)	1 ml
FeCl ₃ (1.0mM)	0.7ml
金属混液 P I	1 ml
pH	7.5

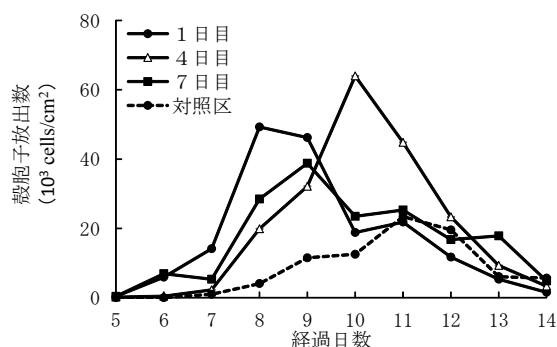


図3 アブシジン酸使用開始時期別の殻胞子放出数の推移

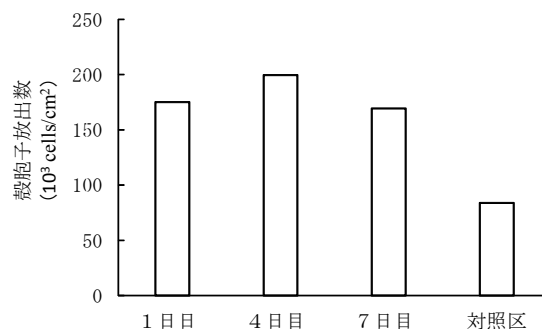


図4 アブシジン酸使用開始時期別の殻胞子総放出数



図5 幼芽期におけるノリ発芽体の顕微鏡写真（左：試験区，右：対照区）

（3）高水温下における野外採苗試験

養殖現場の実態に合わせ、室温、自然光下での約6ヶ月間の培養によって、十分に殻孢子嚢を形成させたカキ殻糸状体を用い、次亜塩素酸で滅菌後、チオ硫酸ナトリウムで中和した地先海水（塩分30）のアブシジン酸濃度を10ppmに調整した培養液を使用した試験区、アブシジン酸を使用しない対照区を、水温18℃、光強度100 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、11時間明期：13時間暗期の条件下で8日間培養して試験に供した。

野外採苗は、柳川市地先の18m×36mの区画に、長さ10.5mのFRP製の支柱を6本建て込んだ養殖施設に、ノリ網（1.8m×18m）3枚を重ねた上で4つ折りにして、試験開始日に水平に張り、ノリ網の下に、カキ殻糸状体を1枚入れた採苗用ポリ袋（13cm×14cm、通称落下傘）60個を、均一に分散するように吊り下げて行った。試験は、高水温下での採苗を想定し、海水温が24℃台に降下した2017年9月25日の午前8時からと、26℃台に降下した2018年9月11日の午前8時から開始して、それぞれ4日間実施した。午前11時以降にノリ網の18箇所から網糸を10cm切り取り、落射蛍光装置付き生物顕微鏡を用いて、倍率100倍で網糸1本あたり20視野を観察し、当日着生した殻孢子数と、発芽体を含めた総着生数を計数して、それぞれの平均値を網糸1cmあたりに換算して求めた。

結 果

（1）高水温下における殻孢子の放出促進効果

水温27℃での培養における殻孢子放出数の推移を図6に示した。試験区、対照区ともに培養期間を通じて、殻孢子の放出は確認されなかった。

（2）水温を途中で上昇させた場合における殻孢子の放出促進効果

水温18℃での培養8日目の殻孢子放出数と、その後、

水温27℃に上昇させた1日目、2日目の殻孢子放出数を図7に示した。18℃8日目での殻孢子放出数は、試験区で8,427cells/cm²、対照区で4,264cells/cm²であった。27℃1日目は、試験区で4,276cells/cm²、対照区で1,390cells/cm²と、18℃8日目の放出数と比較して、それぞれ51%、33%に大きく減少した。2日目は、試験区では、放出は確認されず、対照区も僅かに31cells/cm²が放出されたのみであった。試験区と対照区間の殻孢子放出数の差は有意であった（ $p < 0.05$, t 検定）。

（3）高水温下における野外採苗試験

海水温24℃台での殻孢子着生数と試験実施期間中の昼間満潮時水温の推移を図8に示した。試験期間中、海水温は24.4～24.8℃の間で推移した。殻孢子の着生は、試験区、対照区ともに採苗初日の9月25日から確認され、9月27日まで継続した。殻孢子着生数は、試験区、対照区ともに9月26日に最大となり、網糸1cmあたりの最大殻孢子着生数は、試験区で28.4個、対照区で10.8個であった。

殻孢子総着生数の推移を図9に示した。試験最終日の4日目の殻孢子総着生数は試験区は44.5個、対照区は18.3個と、試験区が対照区を大きく上回った。

海水温26℃台での殻孢子着生数と試験実施期間中の昼間満潮時水温の推移を図10に示した。試験期間中、海水温は26.0～26.6℃の間で推移した。試験区、対照区ともに9月12日から着生が確認され、9月14日まで継続した。殻孢子着生数は試験区で9月13日、対照区で9月14日に最大となり、網糸1cmあたりの最大殻孢子着生数は、試験区で1.3個、対照区で0.8個であった。

殻孢子総着生数の推移を図11に示した。試験最終日の4日目の殻孢子総着生数は、試験区は2.5個、対照区は1.2個と、試験区が対照区を上回ったものの、殻孢子総着生数は非常に少なかった。

考 察

本研究では、アブシジン酸は10ppm で最も効果が高いことが明らかになった。アブシジン酸を使用することで殻胞子放出の開始が早まり、多量の殻胞子が放出される期間が長くなるため、カキ殻糸状体の熟度調整が容易になると期待される。

アブシジン酸の使用開始時期については、1日目から

使用したものは8日目に殻胞子放出数が最大となったが、4日目から使用した場合は6日後の10日目、7日目から使用した場合は2日後の9日目に最大となっており、糸状体の熟度が進んでいる場合は短期間で効果が発現することが示された。総放出数は使用開始時期の違いによる大きな差は見られなかったが、最大放出数やその時期に違いが見られたことから、現場への応用に向けては、より詳細な検討を行い、状況に合わせた効果的な使用方

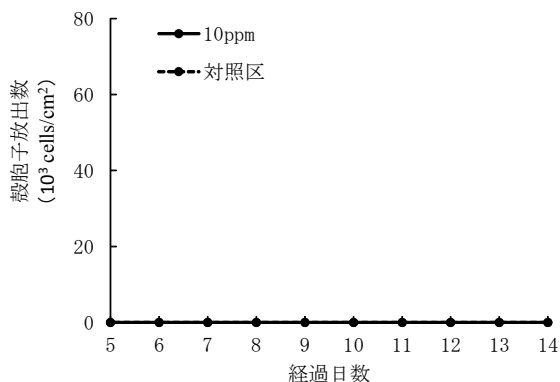


図6 水温27℃での培養における殻胞子放出数の推移

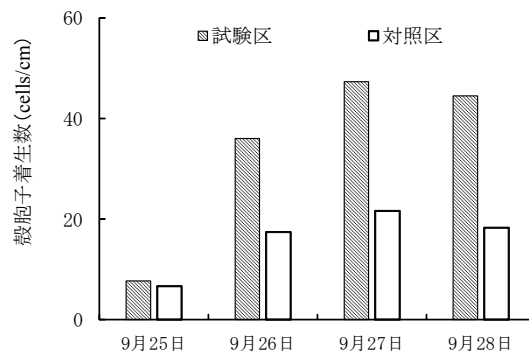


図9 海水温24℃台での野外採苗における殻胞子総着生数の推移

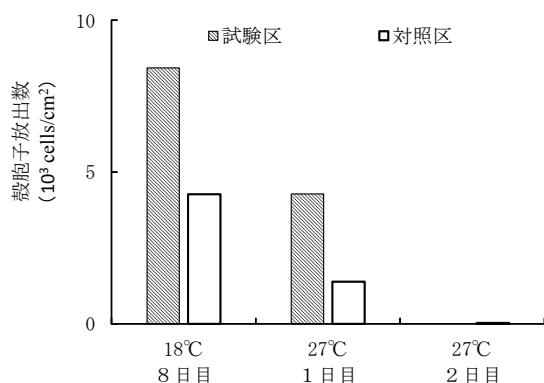


図7 培養水温を18℃から27℃に上昇させた場合の殻胞子放出数の推移

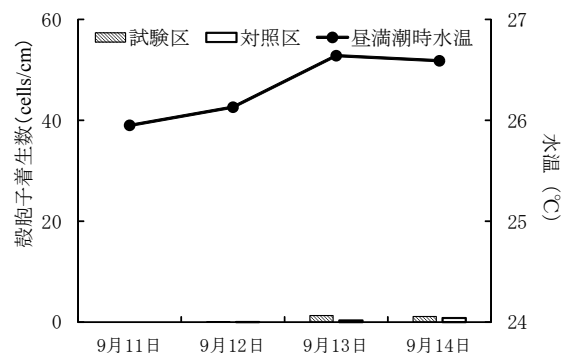


図10 海水温26℃台での野外採苗における殻胞子着生数と昼間満潮時水温の推移

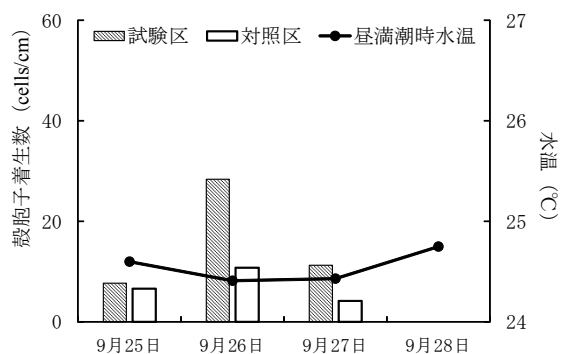


図8 海水温24℃台での野外採苗における殻胞子着生数と昼間満潮時水温の推移

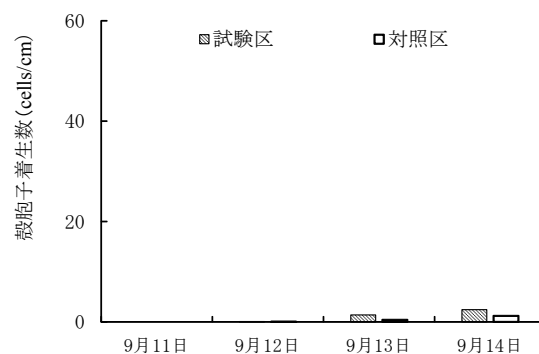


図11 海水温26℃台での野外採苗における殻胞子総着生数の推移

法を確立する必要がある。

高水温下におけるアブシジン酸の殻胞子放出効果については、水温27℃で糸状体を培養した場合は、アブシジン酸を使用しても殻胞子の放出は認められなかった。安部⁶⁾は、水温27℃では殻胞子は放出されないと報告しており、アブシジン酸を使用した今回の結果からも、水温27℃の培養では殻胞子を放出させることは困難と推察された。しかし、高水温の採苗を想定して水温を18℃から27℃に上昇させた場合には、殻胞子の放出数は大幅に減少するものの、試験区では、27℃ 1日目に対照区の約3倍に当たる4,276 cells/cm²の放出が確認され、対照区の18℃ 8日目の放出数を上回った。これは、アブシジン酸によって放出数が増大していたため、高水温条件に移行しても、対照区よりも多く放出されたものと推察された。但し、27℃ 2日目には放出が確認されなかったことから、水温27℃における採苗では、アブシジン酸を使用しても、養殖に必要な殻胞子着生数の確保は難しいと考えられる。また、海水温26℃台の野外採苗試験では、殻胞子着生数は極めて少なく、確認された発芽体の多くは単細胞であり、4分裂以上の発芽体がほとんど確認されなかったことから、海水温26℃以上では、アブシジン酸を使用しても多量の殻胞子放出は見込めず、殻胞子がノリ網に着生しても、多くは死滅すると考えられ、水温を27℃に上昇させた場合の結果と合わせて考えると、海水温26℃以上での採苗は困難であると推察される。

海水温24℃台での野外採苗試験では、ノリ網1 cmあたりの殻胞子総着生数は、試験区は試験開始2日目に36.1個、2日目には47.3個になった。福岡県有明海区のノリ養殖では、採苗時の着生数は35～50個が適正とされており、試験区では適正な着生数が速やかに確保されたが、対照区では、最終日の4日目でも適正な着生数に届かない18.3個であった。福岡県有明海区における過去30年間の採苗日の海水温の最高値は2005年の24.8℃であり、想定される採苗日の高水温帯は24℃台であると考えられること、水温24℃台では27℃に上昇させた場合よりも多くの殻胞子を放出すると推察されることから、海水温24℃台の採苗において、アブシジン酸の実用性は高いと考えられる。また、糸状体の熟度が進んでいる場合は、アブシジン酸の効果は短期間で発現することから、採苗日の海水温が23℃以下に低下しないと判断された場合に緊急的に使用することで、採苗を安定さ

せることが可能となると推察される。但し、山内⁷⁾によると、ノリ幼芽を水温25℃で室内培養した場合は、水温15℃と比較して、葉長は培養7日目以降、生長が鈍化する傾向にあり、10日目以降でくびれや細胞壁の肥厚突出の出現が報告されている。そのため、アブシジン酸の使用による高水温下での採苗は、あくまでも採苗期の一時的な高水温対策にのみ有効と推察される。

本研究では、アブシジン酸の効果を応用し、海水温24℃台での安定採苗の可能性が示唆されたが、高水温に限らず、殻胞子の放出が鈍化する低照度や低塩分環境下においても⁸⁾、アブシジン酸の応用による安定採苗が期待される。

文 献

- 1) 三根 崇, 横尾 一成, 川村 嘉応. 高水温条件下におけるノリの殻胞子放出. 佐賀県有明水産振興センター研究報告 2007 ; 23 : 1-3.
- 2) 高橋 久光, 小塩 海平, 太田 保夫. アブシジン酸がトマトの生育, 水分生理および温度ストレスに及ぼす影響. 園芸学会雑誌. (J. Japan. Soc. Hort. Sci.) 1993 ; 62 (2) : 389-397.
- 3) 岩渕 光伸. 植物生長調整物質を含む培地中でのアマノリ葉体組織片の培養. 福岡県有明水産試験場研究業務報告 1987 ; 17-20.
- 4) 尾田 成幸. 植物ホルモン添加によるノリ殻胞子放出促進効果. 福岡県水産海洋技術センター研究報告 2002 ; 12 : 11-13.
- 5) 淵上 哲, 小谷 正幸, 井手 浩美, 安河内 雄介. 「福岡のり」採苗安定化技術開発. 福岡県水産海洋技術センター事業報告 2016 ; 283-284.
- 6) 安部 昇. ノリの種苗生産及び育苗管理に関する研究. 福岡県有明水産試験場臨時研究報告 1986 ; 18-21.
- 7) 山内 幸児. ノリ幼芽の生長におよぼす温度の影響・I 温度条件とノリ芽の初期生長および形態について. 日本水産学会誌 1974 ; 40 (5) : 439-446.
- 8) 右田 清治. ノリ殻胞子と単胞子の着生. 長崎大学水産学部研究報告 1972 ; 33 : 39-48.