

アラントインを用いて作製したノリ孢子細胞の保存と採苗

村山史康

ノリ *Pyropia* の芽落ち対策として、アラントインを用いたノリ孢子細胞作出法¹⁾を応用し、アラントイン処理したノリ葉体の長期冷凍保存方法、冷凍保存後の採苗方法、ノリ網への孢子細胞追加付着方法等について試験を実施したので報告する。

材料と方法

2013年9月に室内培養で得られたスサビノリ葉体777.7gを、水田ら¹⁾の方法で、16日間アラントイン処理し材料に用いた。処理後は清水²⁾の方法に従って-20℃で冷凍保存した。'13年10月から'14年3月までの間、1ヵ月毎に10.2~30.6gの冷凍保存したノリ(以下、冷凍ノリ)を解冻し、検鏡して細胞の生残率を算出した。

採苗は'13年10月から'14年3月までの間に3回行った。1回目を冷凍1ヵ月後に、以後、3ヵ月後、6ヵ月後に行った。冷凍ノリは氷上で自然解冻し、氷冷した滅菌海水を加えてガラスホモジナイザーで磨砕後、45μmのフィルターを通過させて1Lの懸濁液(以下、懸濁液)とした。作製した懸濁液は400Lの砂ろ過海水とともに1tFRP水槽内に入れ、十分な通気を与えた。これにノリ養殖網(以下、ノリ網)1反を浸漬し、採苗を行った。なお、6ヵ月後のみ、ノリ網から10cmの網糸を切り出し、1Lフラスコにて室内採苗を行った。浸漬後は1時間毎にノリ網の一部を切り取り、孢子細胞の付着数を計数した。その後、採苗した網は、ろ過海水をかけ流しにした屋内水槽に入れ、7日後に生長状況を確認した。

'13年10月に岡山県瀬戸内市牛窓町地先の養殖漁場で採取した芽付きの薄い(5cells以下/網糸2.2mm)育苗網(以下、芽落ち網)の一部を切り出し、長さ10cmの網糸5本を1組として計4組作製した。その後、芽落ち網を10%ホルマリン溶液に浸漬して固定及び脱色し、芽落ち網への追加付着試験に供した。'14年1月に冷凍ノリを解冻し、懸濁液を作製して1Lフラスコ内で芽落ち網を用いた室内採苗を行った。採苗を開始してから0.5, 1, 2, 6時間後に網糸をそれぞれ1組ずつ取り出した。その後、別の1Lフラスコに網糸を移して培養し、7日後に孢子細胞の付着数を計数した。

なお、採苗時の孢子細胞の密度については、いずれの試験においても採苗時の適正殻孢子細胞密度とされる $1.0 \sim 2.0 \times 10^3 \text{ cells/L}^3$ を超えていた。

結果

冷凍ノリの生残率の推移を図1に示した。冷凍1ヵ月後の生残率は96.8%であったが、その後減少し、冷凍6ヵ月後には78.2%となった。

採苗に使用した冷凍ノリの湿重量及び孢子細胞密度を表1に、採苗後24時間までのノリ網への孢子細胞付着数の推移を図2に示した。冷凍1ヵ月後は採苗開始から6時間後、冷凍3ヵ月後は22時間後に適正付着数とされる20cells/網糸2.2mm⁴⁾に達した。なお、冷凍6ヵ月後は22時間後に16cells/網糸2.2mmと最高値を示したものの、適正付着数には達しなかった。また、採苗7日後に検鏡したところ、いずれも正常に生長していた。

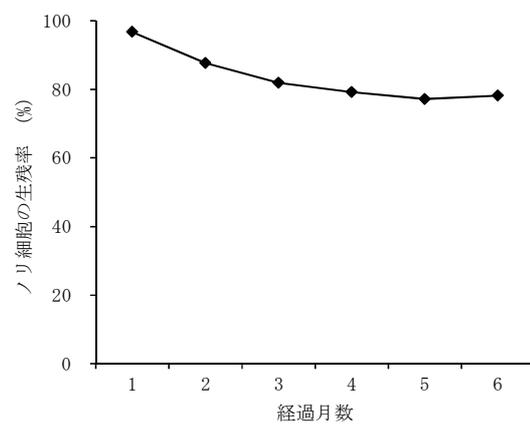


図1 冷凍ノリの生残率の推移

表1 採苗に使用した冷凍ノリ湿重量及び孢子細胞密度

	1ヵ月後	3ヵ月後	6ヵ月後
使用したノリ湿重量 (g)	41.1	50.4	30.2
懸濁液中の孢子細胞濃度 ($\times 10^6 \text{ cells/L}$)	5.4	5.8	2.1
採苗時の単孢子細胞濃度 ($\times 10^4 \text{ cells/L}$)	1.3	1.5	1.5

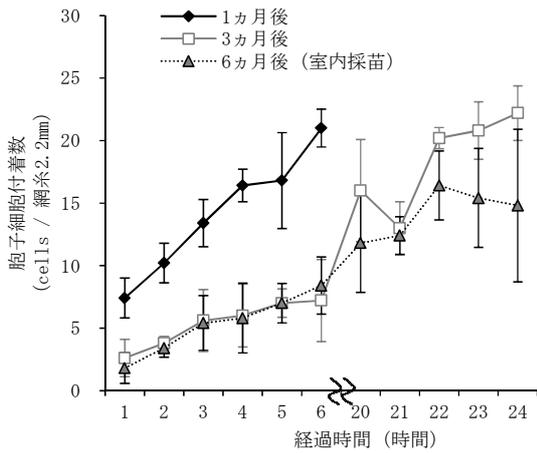


図2 冷凍保存期間別胞子細胞付着数の推移

芽落ち網への追加付着試験で使用した冷凍ノリ湿重量及び胞子細胞密度を表2に、採苗7日後の胞子細胞付着数を図3に示した。芽落ち網でも胞子細胞の付着が確認されたが、対照区より少なく、また、適正付着数には達しなかった。

表2 芽落ち網への追加付着試験で使用した冷凍ノリ湿重量及び胞子細胞密度

冷凍ノリ湿重量 (g)	33.5
懸濁液中の胞子細胞密度 ($\times 10^6$ cells/L)	1.7
採苗時の胞子細胞密度 ($\times 10^4$ cells/L)	2.0

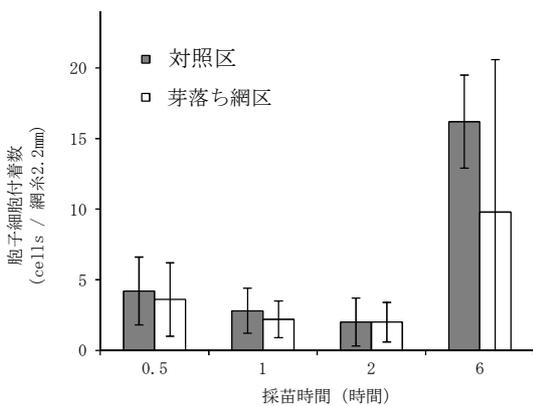


図3 採苗7日後の胞子細胞付着数の推移

考察

胞子細胞の長期冷凍保存が可能であったこと、少なくとも6ヵ月間の冷凍保存後に採苗が可能であったことから、冷凍ノリは次年度のノリ漁期に使用できると考えられた。

また、7日後でも正常に生長しており、清水ら⁵⁾もアラントインで作出した胞子細胞は野外でも摘採可能な葉長に生長したと報告していることから、今回のノリも現場で正常に生長できると考えられた。さらに、この屋内水槽での採苗試験でノリ1g あたり平均 1.2×10^5 cells の胞子細胞が得られたこと、採苗の前後でノリ網1反あたり平均 2.4×10^8 cells の胞子細胞を消費したことから、ノリ網1反採苗するためには20.0g のノリが必要であると考えられた。

また、清水⁶⁾及び図2の結果から、胞子細胞密度と付着率の関係は、図4に示したとおり、相関係数 $r = 0.47$ と低かったことから、本報で用いた胞子細胞密度に問題はなく、また、胞子細胞密度を高くしていても、付着数が増加していた可能性は低いと考えられた。

芽落ちしたノリ網に、アラントインから作製した胞子細胞が付着することを確認できたが、対照区よりも付着数が少なく、また、適正付着数を超えることもなかった。

以上のことから、芽落ちしたノリ網に胞子細胞を追加で供給することは困難ではあるが、表3に示したとおり、緊急時に新しい網を種網に仕上げるができるため、本法は芽落ちの救済策の1つとなる可能性があると考えられた。

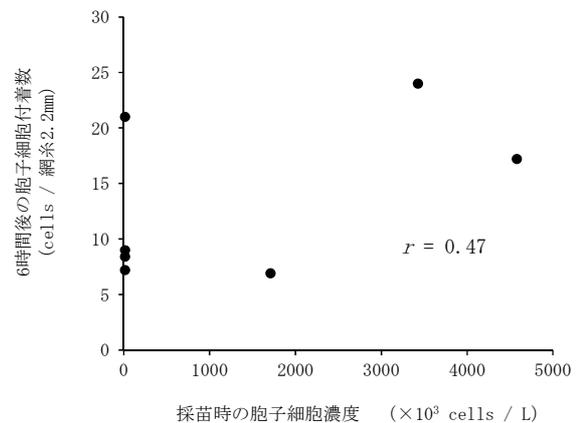


図4 採苗時の胞子細胞密度と胞子細胞付着数との関係

表3 アラントイン処理からノリ網再採苗までの工程

1	前年度漁期のノリを10uM濃度で16日間アラントイン処理
2	10%ショ糖に1分浸漬後、水を切って-20℃で冷凍保存
3	芽落ち発生時、冷凍ノリを使用直前に自然解凍
4	海水を加えてホモジナイズ
5	50uMメッシュで不純物を取り除き、懸濁液を作製
6	エアレーションによる採苗（24時間） (200L水槽でノリ網1枚あたり20gの冷凍ノリが必要)

今回、ノリ777.7gを一括でアラントイン処理できたことから、現状では40反程度の採苗は可能であると考えられたが、網糸への付着数が安定しないなどの課題も残った。また、孢子細胞は冷凍後6ヵ月以上経過しても、適正付着数に達するか確かめる必要がある。これらのことから、今後は効率よく採苗を行う方法を検討し、引き続き実用化へ向けた試験を行う必要がある。

文献

- 1) H. MIZUTA, H. YASUI and N. SAGA, 2003: A simple method to mass produce monospores in the thallus of *Porphyra yezoensis* Ueda, *J. Appl. Phycol.*, **15**, 29-35.
- 2) 清水泰子, 2011: アラントイン処理したノリ葉体の凍結保存の検討, 岡山水研報告, **26**, 55-56.
- 3) 安部 昇, 1986: ノリの種苗生産及び育苗管理に関する研究, 福岡水試臨時研報, 52-53.
- 4) 全国漁業協同組合連合会, 2006: JF 全漁連のりごよみ, 東京, 179pp.
- 5) 清水泰子・草加耕司, 2009: アラントインで作出したスサビノリ胞子の養殖試験, 岡山水誌報, **24**, 125-127.
- 6) 清水泰子, 2011: ノリ芽落ち対策技術開発, 平成22年度岡山県農林水産総合センター水産研究所年報, 11.