

## セイヨウハバノリ盤状体・直立体形成に及ぼすキレート鉄の影響

二村 和 視<sup>\*1</sup>・野田 浩之<sup>\*1</sup>・岡本 一利<sup>\*2</sup>

キレート鉄がセイヨウハバノリの盤状体・直立体形成に及ぼす影響について調べた。キレート鉄添加区では、試験開始27日後にすべての糸状体が盤状体を形成し、直立体発芽率も80.6%と高い値を示した。一方、鉄無添加区では糸状体が多数観察され、直立体発芽率は7.1%であった。また、2年近く保存培養した糸状体を用いても種苗生産が可能であることが示された。これらの結果はセイヨウハバノリの養殖用種苗の生産に応用できると考えられた。

キーワード：セイヨウハバノリ、盤状体、直立体、キレート鉄

### はじめに

ハバノリ *Petalonia binghamiae* やセイヨウハバノリ *P. fascia* は日本各地の潮間帯中部から下部に生育する扁平な形態のカヤモノリ科の褐藻であり<sup>1)</sup>、直立体は主に冬季に繁茂する。直立体表面に形成された複子嚢から放出された配偶子は基質に着底、分化して糸状体および盤状体となり、冬季に再び直立体を形成する<sup>2), 3)</sup>。このハバノリ、セイヨウハバノリは、直立体を板海苔状に乾燥させたものを食用にしており<sup>4)</sup>、ハバノリは約7千円/帖の高値で販売されている<sup>5)</sup>。

セイヨウハバノリの海面養殖方法については既に報告があり<sup>6), 7)</sup>、ハバノリについては海面養殖および陸上養殖した事例がある<sup>5), 7)</sup>。ハバノリ類の配偶子、盤状体など微小世代の培養については、培養液中に浮遊させた盤状体もしくは配偶子を培養容器で保存した事例<sup>5), 6)</sup>や、配偶子を150個/mL以上の密度の懸濁液として保存し、培養密度を下げることで発芽させる方法<sup>3)</sup>などが報告されている。

一方、同じ褐藻綱のコンブ科植物では、鉄を添加していない培地で配偶体を培養した場合、成熟せずに生長し続けることが報告されている<sup>8), 9)</sup>。筆者らはこれらの知見から、鉄無添加のPES<sup>10)</sup>を培地として、サガラメ・カジメなどのコンブ科植物の配偶体を発芽させずに培養し、キレート鉄を添加した培地で培養することで胞子体を得ている<sup>11)</sup>。この方法は培地の交換のみで成熟を制御できることから、簡

便に種苗を生産することが可能となった。この方法を応用して、セイヨウハバノリの配偶子を鉄無添加の培地で培養したところ、ほとんどの個体が糸状体にとどまることを確認した（図1A）。そのためセイヨウハバノリでもキレート鉄が盤状体・直立体形成に影響を及ぼしていると考え、以下の試験を行い、知見が得られたので報告する。

### 材料および方法

#### (1) 配偶子の採取

試験に用いたセイヨウハバノリは、2007年1月12日に静岡県牧之原市新庄の地頭方漁港にて採取した直立体を用いた。採取した直立体は直ちに保冷剤を入れたクーラーボックスに入れ、静岡県水産技術研究所駿河湾深層海水利用施設に持ち帰った。この直立体の成熟部位を解剖バサミで切り出し、ペーパータオルで拭い、ろ過滅菌海水（以下ASW）で洗浄した。次いで、ポビドンヨードと酸化ゲルマニウムをそれぞれ1%，1mg/L添加したASW中に30分浸漬した。その後、ASWで再度洗浄し、ペーパータオルで拭った後、別のペーパータオルに包み、ファスナー付きのビニール袋に封入してから、冷蔵庫（4℃）中で1時間保存した。その後、この成熟部位を100mLのASWに浸して配偶子を放出させ、配偶子液1mLを採取し、ポリスチレン製滅菌シャーレ（外径×高さ=93×21mm、以下同じ）に移した。これに30mLのASWを満たした後、培養室に

2010年2月8日受理

静岡県水産技術研究所（本所）業績第1140号

<sup>\*1</sup> 静岡県水産技術研究所利用普及部

<sup>\*2</sup> 静岡県水産技術研究所利用普及部、現静岡県水産資源室

て光量40mol/m<sup>2</sup>/s, 光周期12時間明期：12時間暗期, 水温20°Cの条件で培養した。

## (2) 糸状体の保存培養

培養開始から3日後に発芽状況を観察し, 培地を鉄(Fe-EDTAおよび塩化鉄)無添加のPESI<sup>11)</sup>に交換し, 糸状体の生育状況に応じてメリクロン用フラスコ(500ml), 三角フラスコ(1000mL, 3000mL)を順次使用して, 上記と同じ条件で培養した(保存培養)。保存培養期間中は約4週間毎に培地を鉄無添加のPESIに交換した。なお, 用いた器具は, オートクレーブで滅菌(121°C, 20分)し, 海水はグラスファイバーフィルターでろ過した後, 同様に滅菌した。

## (3) キレート鉄添加による直立体形成試験

キレート鉄添加による糸状体の直立体形成試験には, (2)により2008年12月17日まで保存培養した糸状体を用い, 2008年12月17日から2009年3月11日まで行った。これをミキサーで30~60秒細断し(写真1A), 30mLのキレート鉄(Fe-EDTA)添加もしくは鉄無添加のPESIを満たしたポリスチレン製滅菌シャーレ各2枚に移して培養した。培地以外の培養条件は, 保存培養と同じとした。その後, 約1週間毎に倒立顕微鏡で糸状体, 盤状体および直立体の生育状況を84日間観察し, 適宜写真撮影した。また, 27日後に実体顕微鏡下で糸状体と盤状体の数を計数し, 盤状体形成率を求めた。盤状体については直立体の形成および未形成個体を計数し, 直立体を形成した盤状体数を全盤状体数で除すことにより直立体発芽率(%)を算出すると共に, 盤状体1個あたりの直立体数を計数し, 盤状体あたりの発芽数(平均±標準偏差)を算出した。統計処理は $\chi^2$ 乗検定, *t*検定を行い, 解析にはExcel 2003を用いた。

## 結 果

試験開始27日後の盤状体と糸状体の形成状況を表1, 2に示す。鉄添加区ではすべての糸状体が盤状体を形成し, 直立体発芽率は80.6%と高い値を示した。これにより, 発芽を確認した2007年1月16日から2008年12月17日まで, 23ヶ月間保存培養した糸状体(写真1A)から正常に直立体が発生することが確認された(写真1B)。盤状体あたりの発芽数は4.8±5.3(平均±標準偏差)で, 1つの盤状体から多数の直立体が発芽していた(写真1B)。一方, 鉄無添加区では, 形成された60.7%の盤状体は鉄添加区の盤状体に比べると完全な盤状にはならず, 楕円形の小型なものであった(写真1C)。また, 直立体発芽率は7.1%であり, 盘状体あたりの発芽数も0.1±0.4となり, 直立体がほとんどみられなかった。鉄添加区と鉄無添加区とでは, 盘状体の形成および直立体発芽数で有意差がみられた( $\chi^2$ 検定, *p*<

0.01), さらに盤状体あたりの発芽数でも有意差がみられた(*t*検定, *p*<0.01)。培養開始84日後には, 鉄添加区で

表1 セイヨウハバノリ盤状体形成に及ぼすキレート鉄の影響

試験区	糸状体*	盤状体*	盤状体形成率
	(n)		(%)
鉄無添加区	25	38	60.7
鉄添加区	0	74	100.0

\*  $\chi^2$ 検定, *p*<0.01

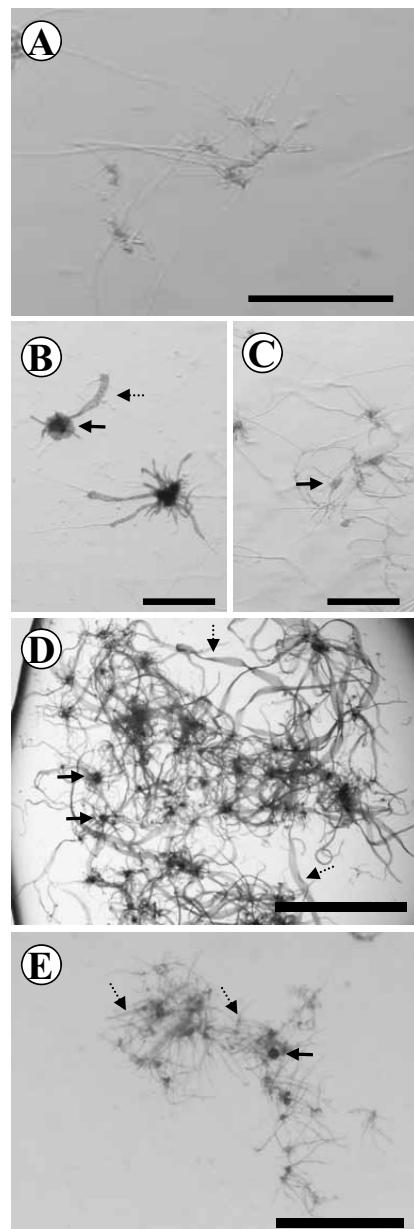


写真1 セイヨウハバノリ糸状体(A), 鉄添加区培養19日後(B), 鉄無添加区培養19日後(C), 鉄添加区培養84日後(D), 鉄無添加区培養84日後(E). 矢印(実線)：盤状体、矢印(点線)：直立体. スケールバー=500 μm (A-C), 5 mm (D), 1 mm (E).

表2 セイヨウハバノリ直立体の発芽に及ぼすキレート鉄の影響

試験区	未発芽*	発芽*	直立体発芽率 (%)	盤状体あたりの発芽数**
	(n)	(%)		
鉄無添加区	26	2	7.1	0.1 ± 0.4
鉄添加区	7	29	80.6	4.8 ± 5.3

\*  $\chi^2$ 検定,  $p < 0.01$ \*\* 平均±標準偏差,  $t$ 検定,  $p < 0.01$ 

は直立体が多数観察でき（写真1D），鉄無添加区（写真1E）よりも大型の個体が多かった。

### 考 察

今回の試験から、セイヨウハバノリの糸状体をキレート鉄無添加培地で培養することにより、糸状体の状態を長期間維持できることがわかった。さらに、培地をキレート鉄添加培地に交換することにより、簡単に盤状体、直立体を得られることが明らかとなった。コンブ科の配偶体は培地への鉄添加の有無により成熟を制御できることが知られているが<sup>8, 9)</sup>、セイヨウハバノリにおいても培地への鉄添加の有無により盤状体および直立体の形成を制御できると考えられた。

徳島県におけるセイヨウハバノリの養殖事例では、直立体の成熟時期である2月から3月に配偶子を放出させ、約20°Cの培養液で保存を行い、保存した種を用いて9月から11月にノリ網に採苗し、12月から海面で育苗している<sup>6)</sup>。このように、セイヨウハバノリは繁茂期の終期に配偶子の放出時期となるため、海面養殖の採苗に必要な糸状体や盤状体を保存し、翌シーズンの養殖適期にあわせた種苗生産が不可欠となる。鉄無添加の培地を用いた培養において約23ヶ月間保存培養した糸状体から正常に直立体を生産できたことから、本方法が海面養殖用の種苗の生産に利用できるものと考えられた。また、本方法により有性生殖をさせずに複数年にわたり遺伝的に同一な種苗を供給できるため、高生長や機能性成分含有量の増加等の産業上重要な特徴を持った養殖品種の作出とその安定生産に資するものと考えられた。さらに、保存培養期間中の管理は、鉄無添加培地を約1ヶ月に1回交換するのみで簡便に糸状体を保存できるため、採苗生産工程へと容易に導入できるものと考えられた。

### 謝 辞

本研究を行うにあたり、セイヨウハバノリの採取にご協力頂いた地頭方漁業協同組合に謝意を表します。

### 文 献

- 吉田忠生（1998）：セイヨウハバノリ属，新日本海藻誌，内田老鶴園，東京，307～310.
- 小亀一弘（1993）：セイヨウハバノリ，藻類の生活史集成，第2巻 褐藻・紅藻類，（堀輝三編），内田老鶴園，東京，56～57.
- 前川行幸・倉島彰（2007）：はばのりの養殖，特開2007-195460.
- 大野正夫（2004）：地方特産の食用海藻，有用海藻誌（大野正夫編著）内田老鶴園，東京，283～296.
- 浜田英之（2006）：深層水を利用した褐藻類の大量培養技術について，高知県海洋深層水研究所報，7，43～52.
- 廣澤晃（1996）：冬磯の味覚「ハバノリ」（セイヨウハバノリの養殖方法について），徳島水研だより，第57号.
- 久保昭史（1987）：カヤモノリ科有用海藻の養殖に関する研究，神奈川県水産試験場研究報告，8，41～48.
- Motomura, T. and Y. Sakai (1984): Regulation of gametogenesis of *Laminaria* and *Desmarestia* (Phaeophyta) by iron and boron, *Jpn. J. Phycol.*, 32, 209～215.
- 川嶋之雄・松本正喜（2003）：アラメ・カジメ類の造成技術，藻場の海藻と造成技術（能登谷正浩編），成山堂書店，東京，217～230.
- Provasoli L. (1968): Media and prospects for the cultivation of marine algae, Cultures and collections of algae, Proc. U. S. - Japan Conf. Hakone, 63～75.
- 二村和視（2006）：サガラメ・カジメ種苗生産，平成16年度静岡県水産試験場事業報告，70.
- 秋山和夫・松岡正義（1986）：ワカメ，浅海養殖（社団法人資源協会編著），541～566.

## Effect of Chelated Iron on the Formation of Crustose and Erect Thallus in *Petalonia fascia*

Kazumi Nimura, Hiroyuki Noda and Kazutoshi Okamoto

**Abstract** The objective of this study was to evaluate the effect of chelated iron on the formation of crustose and erect thallus in *Petalonia fascia*. All filamentous gametophytes were formed crustose thallus in the medium added chelated iron (Fe-EDTA) after 27 days, and the erect thallus was formed about 80.6 % of crustose thallus. At the same time, there are the many filamentous gametophytes in the medium without iron, and only 7.1 % of crustose thallus was formed erect thallus. In these experiments, we used the filamentous gametophytes cultured about 2 years, and this fact indicates that the gametophytes cultured in long term are able to form the erect thallus. It is considered that these results are applied to seedling production for tank cultivation and mari-culture in *P. fascia*.

**Key words:** *Petalonia fascia*, Crustose thallus, Elect thallus, Chelated iron