

アカモク冷蔵幼胚の発芽率に及ぼす 保存密度および保存後の温度馴致の影響 (短報)

西垣友和, 道家章生

Effect of acclimation and density on the germination rate of
Sargassum horneri embryos stored at low temperature

Tomokazu Nishigaki and Akio Douke

キーワード: アカモク, 冷蔵幼胚, 密度, 馴致

アカモク *Sargassum horneri* は一年生のホンダワラ科海藻で、北海道(東部を除く)、本州、四国、九州に分布(吉田, 1998)している。日本海沿岸の秋田県や新潟県では食用海藻として古くから利用されており(池原, 1987)、近年は利用が太平洋沿岸や九州沿岸など全国に拡大している。また、沿岸海域の高い生産性を支えるガラモ場の構成種としても注目されており、各地で人工種苗を用いた藻場造成や養殖試験が実施されている(例えば、吉田, 西川, 1975; 秋田県, 新潟県, 2005)。

吉田ら(2000)は、アカモク種苗生産の利便性を向上させるために、幼胚の冷蔵保存技術を検討しており、幼胚は暗条件の低温(5°C)下で長期間生存し、冷蔵保存後に培養温度に応じた馴致を行うことで、冷蔵せずに培養した場合と遜色ない発芽能を示すことを明らかにした。冷蔵幼胚を利用して種苗の大量生産を行うためには、幼胚を高密度に保存することに加えて、煩雑な馴致作業を省略できることが望ましい。そこで、本研究では冷蔵保存時の幼胚の密度および冷蔵保存後の温度馴致が幼胚の発芽率に及ぼす影響を調査し、発芽能が維持される密度および馴致の必要性について検討した。

2013年4月23日に宮津市里波見地先において、生殖器床表面に幼胚が付着した藻体を採集し、クーラーボックスに收容して、京都府農林水産技術センター海洋センターまで持ち帰った。センターの屋外水槽棟内に設置されたコンテナに藻体を收容し、乾燥防止のために網袋で覆い、砂濾過海水をかけ流して培養した。5月1日にコンテナ底面に貯まった幼胚を回収し、目合い2 mm, 0.5 mmの金属製篩および目合い400 μmのナイロンメッシュを用いて藻体片等の夾雑物を除去した。その後、砂濾過海水および100°Cで1分間程度煮沸した砂濾過海水(以下、煮沸海水と表す)を用いて3回ずつ洗浄したものを幼胚液とした。幼胚液の幼胚密度を計算した後に、容量300 mlの透明塩化ビニル樹脂製の広口瓶に幼胚(長径527 ± 154 μm, 短径237 ± 26 μm (n=20, 平均値 ± 標準偏差))を3,000個, 30,000個および150,000個ずつ

收容した。幼胚密度がそれぞれ1万個L⁻¹, 10万個L⁻¹および50万個L⁻¹となるように、保存液として煮沸海水を満たした後、瓶に蓋をして、それぞれA, BおよびC区とした。その後、広口瓶を不透明な箱に收容して遮光し、4°Cに調温した大型冷蔵庫内で保存した。保存開始から7, 21, 63日後に各区から幼胚の一部を取り出し、以下の方法で発芽率の確認を行った。取り出した幼胚を容量100 mlのガラス瓶に入れ、同じ冷蔵庫内に保管していた煮沸海水を満たした後に、アルミ箔で覆って遮光し、インキュベーターに收容し、吉田ら(2000)に従い10°Cで3日間、その後15°Cで3日間温度馴致を行った。馴致後、24穴マイクロプレートの18穴にそれぞれ幼胚10個程度を砂濾過海水1.5 mlと共に入れ、インキュベーターで、温度20°C, 光量子量50 ~ 70 μmol m⁻² s⁻¹, 明暗周期12hL:12hDで7 ~ 8日間培養した。培養後に先端部分の伸長が認められた幼胚を計数し、培養開始時の幼胚数で除して各穴の発芽率を算出した。50 ~ 100万個L⁻¹で1ヶ月間、4°Cで冷蔵保存を行った予備試験では、保存後に発芽能を有した幼胚は認められなかった。その際に、細菌の増殖によると思われる保存液の白濁およびpHの低下が確認され、pHの低下により幼胚の発芽能が失われた可能性が考えられた。そこで、本研究ではpHメーター(pH/mV meter, 佐藤計量器製作所)を用いて、冷蔵保存開始から1週間に1回の頻度で29 ~ 63日後まで、各区のpHを測定した。

冷蔵保存前の幼胚の発芽率は91.3 ± 7.6% (N=18, 平均 ± 標準偏差, 以下同様)であった。A区では、幼胚の発芽率は7日間冷蔵保存したもので88.9 ± 13.1%であり、21日間では69.8 ± 20.1%, 63日間では84.6 ± 11.4%であり(Fig. 1)、概ね高い発芽率が維持されていた。一方、B区およびC区では7日間冷蔵保存した時点の幼胚の発芽率は0%であり(Fig. 1)、幼胚は失活したと判断されたため、その後の発芽率の確認は行わなかった。

保存液として用いた煮沸海水のpHは8.2であった。冷蔵保存開始から7日後のA, BおよびC区のpHは、

それぞれ 7.5, 6.1 および 5.2 であり (Fig. 1), 幼胚密度が高い区ほど低い値を示した。また, 密度の高い B, C 区では, 培養液が白濁していた。pH は B 区および C 区では 14 日後にそれぞれ 5.1 および 4.4 まで, A 区では 21 日後に 6.9 まで低下したが, その後はいずれの区もほとんど変化なく推移した (Fig. 1)。

これらの結果から, 幼胚を 2 ヶ月間冷蔵保存する場合の密度としては, 高い発芽率を維持できる 1 万個 L^{-1} が適当であり, 幼胚が失活する 10 万個 L^{-1} 以上は不適と考えられた。また, 幼胚の発芽能は pH7 程度までは維持されるものの, pH6 以下では失われることが推察された。

次に, 冷蔵保存後の培養温度として 20°C および 25°C を設定し, それぞれの温度に応じた馴致が幼胚の発芽能に及ぼす影響を検討した。先述の A 区で 63 日間冷蔵保存し, 温度馴致後に 20°C で培養した区を「20°C 馴致区」とした。「20°C 馴致区」の培養開始と同日 (保存 69 日後) に, 馴致を省略して同様の条件で培養を開始した区を「20°C 無馴致区」とした。さらに, 90 日間冷蔵保存した幼胚を 10°C, 15°C, 20°C で 2 日間ずつ順に昇温させて馴致した後に, 25°C で培養した区を「25°C 馴致区」, 保存 96 日後に, 馴致を省略して「25°C 無馴致区」と同様の条件で培養した区を「25°C 無馴致区」とした。全ての区で, 7 日間培養後に幼胚の発芽率を求めた。

幼胚の発芽率は, 「20°C 馴致区」で $84.6 \pm 11.4\%$, 「20°C 無馴致区」で $80.7 \pm 11.1\%$, 「25°C 馴致区」で $81.0 \pm 15.0\%$, 「25°C 無馴致区」で $75.7 \pm 13.7\%$ であった (Fig. 2)。馴致の有無による差および温度間の差について, 繰り返しのある二元配置分散分析を行った結果, 有意水準 5% で有意な差は認められなかった ($P=0.148$ および $P=0.173$)。

これらの結果から, 冷蔵保存後の培養温度が 20 ~ 25°C の場合, 馴致を省略しても幼胚の発芽能への影響はないと考えられた。吉田ら (2001) は, アカモク幼胚を冷蔵保存した後, 自然水温下で培養を開始する際に, 急激な温度変化による種苗への影響を懸念し, 培養庫内で馴致を行っている。本研究により冷蔵保存後に馴致が不要な培養温度が明らかになったことで, 今後アカモク種苗生産に係る経費や労力の軽減が期待される。

文 献

- 秋田県, 新潟県. 2005. アカモク. ホンダワラ類等有用海藻類の増養殖技術開発に関する研究総括報告書. 14-28.
- 池原宏二. 1987. 日本海における食用としてのホンダワラとアカモク. 藻類, **35**: 233-235.
- 吉田吾郎, 吉川浩二, 寺脇利信. 2000. 低温保存したアカモク幼胚の発芽率と成長. 日水誌, **66**: 739-740.
- 吉田吾郎, 吉川浩二, 内村真之, 寺脇利信. 2001. 一年

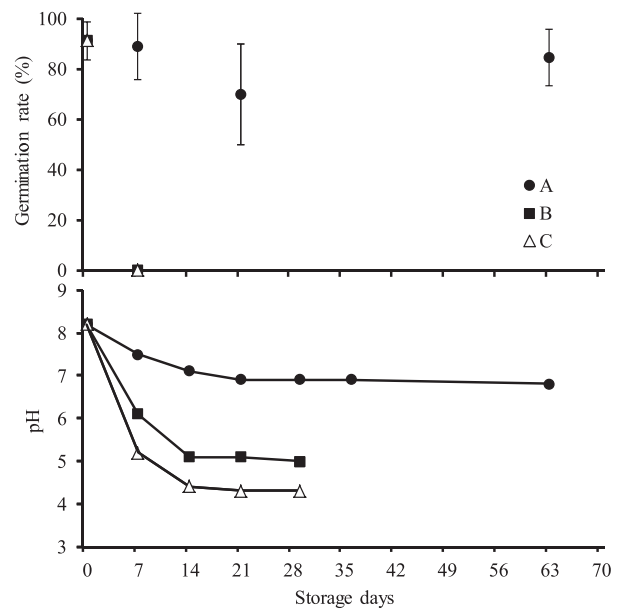


Fig. 1 Variation in the germination rate of *Sargassum horneri* embryos and pH of medium with storage at low temperature (4 °C) and at densities of 1.0×10^4 (A), 1.0×10^5 (B) and $5.0 \times 10^5 L^{-1}$ (C).

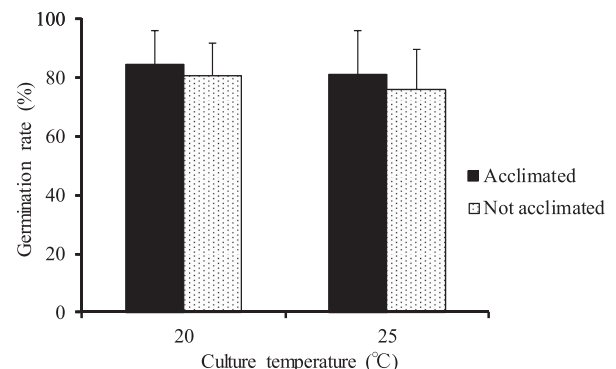


Fig. 2 Germination rate of *Sargassum horneri* embryos at culture temperatures of 20 and 25 °C after storage at low temperature (4 °C). Solid bars represent embryos acclimated at 10 and 15 °C before culture at 20 °C or acclimated at 10, 15 and 20 °C before culture at 25 °C. Dotted bars represent embryos cultured at 20 or 25 °C without acclimation.

生ホンダワラ類アカモク冷蔵種苗の成長と成熟. 藻類, **49**: 177-184.

吉田範秋, 西川 博. 1975. ホンダワラ類の生長. 長崎水試研報, **1**: 13-18.

吉田忠生. 1998. 「新日本海藻誌」. 386-387. 内田老鶴圃, 東京.