

# 発生段階別に冷蔵保存したアカモク幼胚の発芽率

瀬田智文

Germination rate of *Sargassum horneri* embryos stored at a low temperature in relation to developmental stage

Tomofumi Seta

After storing embryos of the brown macroalgae *Sargassum horneri* in different stages of development at a low temperature (5°C) for about one month, the proportion of germinated individuals was examined. The germination rate of all undivided embryos and 2-cell embryos was 0%. The germination rates of 3-cell embryos, 4-cell embryos and embryos with no rhizoids after the 4-cell stage were 25%, 17% and 68%, respectively. In contrast, the germination rate of embryos with rhizoids was 100%. The results of this study indicate that stable low-temperature preservation may be possible using embryos with rhizoids.

キーワード: アカモク, 幼胚, 冷蔵, 発生段階, 仮根, 発芽率

アカモク *Sargassum horneri* は北海道(東部を除く), 本州, 四国, 九州まで広く分布(吉田, 1998)する一年生のホンダワラ科海藻であり, 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いる(池原, 1987)。近年, 京都府においてもアカモクの需要は高まっており, 2007年から天然アカモクの漁獲が開始されている(京都府農林水産技術センター海洋センター, 2016)。天然アカモクの漁獲量は2012年には8トンに達したが, 翌年には資源が減少し禁漁となるなど資源量の年変動が大きい。そこで, 本種の生産安定化を図るため, 京都府では養殖技術に関する研究が行われている(西垣ら, 2010; 西垣, 道家, 2014; 西垣ら, 2016)。

西垣ら(2016)は, 3月に本種の母藻から得た幼胚を, ABS樹脂製の基質上に散布した後, 10月まで静置および攪拌培養で育成した。しかし, この方法では培養期間が約8ヶ月と長期に亘るため, その間に種苗が必要以上に大型化して管理が煩雑になり, 生産効率の低下を招く等の問題があった。そこで, 藻場造成や試験研究用の種苗の確保を図るために開発された本種幼胚の冷蔵保存技術(吉田ら, 2000)を利用することにより, 培養期間を約5ヶ月短縮することが可能となった(アカモク養殖技術開発グループ, 2017)。ところが, 2017年2月に冷蔵保存した幼胚の発芽率は, 保存1ヶ月後には50%程度に留まり(未発表), これまでに報告されていた発芽率80%程度(吉田ら, 2000; 西垣, 道家, 2016)を大幅に下回った。この時に発芽しなかった幼胚は, 2細胞あるいは4細胞といった初期発生段階の個体が多く, 冷蔵保存した幼胚の発芽率は発生段階によっ

て異なる可能性がある。

そこで本研究では, アカモクの効率的な種苗生産技術を確立するために, 幼胚を発生段階別に冷蔵保存し, 冷蔵保存後の幼胚の発芽率を調べた。

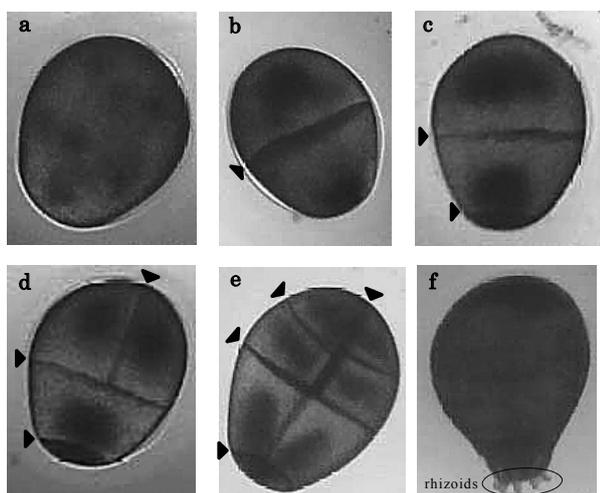
## 材料と方法

**幼胚採取** 2017年4月7日に, 京都府農林水産技術センター海洋センター敷地内の船揚げ場斜路に生育していた未成熟な雌雄のアカモクを, 幼胚採取用の母藻として採取し, 同センター内に設置されたコンテナに収容した。コンテナには砂濾過海水を掛け流しにした。4月13日に, アカモクの雌性生殖器床(以下, 生殖器床)に付着した幼胚を観察したところ, 受精の有無が不明な未分割, 2細胞, 3細胞および4細胞の幼胚が確認され(Fig.1a-d), これらを初期発生段階の幼胚として実験に供した。翌日, 多くの幼胚が4細胞より後の発生段階に達していたが, 仮根の伸長はみられない状態(Fig.1e)であり, これらを中期発生段階の幼胚として実験に供した。また, 母藻を収容していたコンテナの底に自然落下して仮根の伸長がみられた幼胚(Fig.1f)は, 終期発生段階の幼胚として実験に供した。なお, 4月7日から14日までの砂濾過海水の水温は, 同センターの取水水温観測結果から約13.4°Cであった。

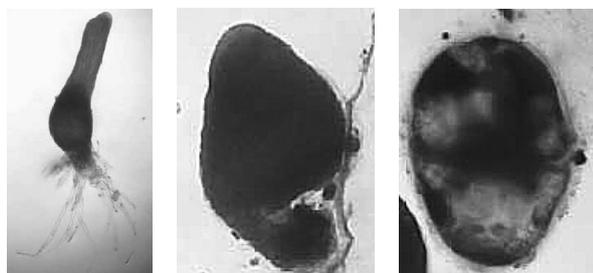
**冷蔵実験** 初期から終期発生段階までの幼胚を, 約3mlの砂濾過海水で満たしたマイクロプレートの穴に10~18個ずつ入れ, A~Iまで9つの実験区を設定した(Table 1)。なお, A, B, Cは初期発生段階, D, E, Fは中期発生段階, G, H, Iは終期発生段階の幼胚を主対象とした実験区であるが, 幼胚1つ1つを

**Table 1** Number of *Sargassum horneri* embryos in each stage of development (see Fig. 1 for photographs) before refrigeration

Test group	Early stages				Middle stages	Final stage	Total
	Undivided	2-cell	3-cell	4-cell	No rhizoids after 4-cell	With rhizoids	
A	6	10	2	0	0	0	18
B	4	5	1	1	0	0	11
C	5	7	0	2	0	0	14
D	0	0	1	1	11	0	13
E	0	1	0	2	10	0	13
F	0	0	0	0	10	8	18
G	0	0	0	0	0	12	12
H	0	0	0	0	0	10	10
I	0	0	0	0	0	13	13



**Fig. 1** Development stages of *Sargassum horneri* embryos: (a) undivided stage, (b) 2-cell stage, (c) 3-cell stage, (d) 4-cell stage, (e) stage with no rhizoids after 4-cell, and (f) stage with rhizoids. Arrows denote cleavage lines.



**Fig. 2** States of *Sargassum horneri* embryos after refrigeration: germinated (left panel), abnormal (middle panel) and dead (right panel).

分離して扱うことが操作上困難であったため、D, E, F には初期発生段階及び終期発生段階の幼胚が一部混入した。幼胚を入れたマイクロプレートは、アルミ箔で全体を覆って完全に遮光し、5°Cで調温した大型冷蔵庫で約1ヶ月間保管した。冷蔵保存後の幼胚の状態は、発芽、異常発生もしくは死亡に分けられ (Fig.2), これに基づき判定を行った。なお、マイクロプレートを冷蔵庫から取り出した直後の幼胚は状態が不明瞭であったため、6日間常温で培養した後で状態の判定を行った。

## 結 果

全実験区における冷蔵保存後の幼胚の状態判定結果を Table 2 に示した。初期発生段階の幼胚を入れた実験区 A, B, C は、全ての個体が異常発生もしくは死亡と判定された。主に中期発生段階の幼胚を入れた実験区 D, E, F は、D, F では全ての個体が発芽、E では全ての個体が異常発生もしくは死亡と判定された。終期発生段階の幼胚を入れた実験区 G, H, I は、全ての個体が発芽と判定された。

冷蔵保存後に発芽と判定された幼胚の割合について、発生段階別に集計した結果を Fig.3 に示した。初期発生段階では、未分割幼胚 (a) は実験区 A, B, C の結果から 0% (n=15), 2細胞幼胚 (b) は実験区 A, B, C, E の結果から 0% (n=23) となり、いずれも発芽は確認できなかった。さらに、3細胞幼胚 (c) は実験区 A, B, D の結果から 25% (n=4), 4細胞幼胚 (d) は実験区 B, C, D, E の結果から 17% (n=6) が冷蔵保存後に発芽した。4細胞より後の発生段階で仮根伸長がみられない中期発生段階の幼胚 (e) の割合は、実験区 D, E, F の結果から 68% (n=31)

**Table 2** Number of *Sargassum horneri* embryos after refrigeration in relation to viability

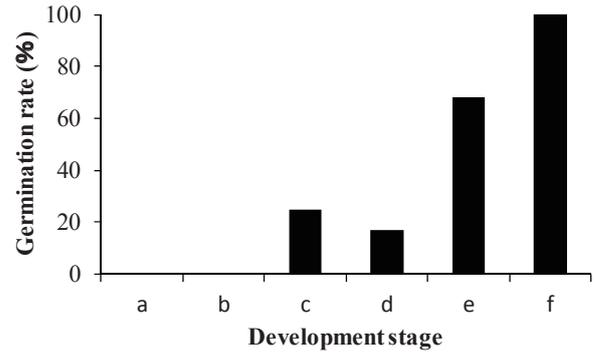
Test group	Germinated	Abnormal or Dead	Total
A	0	18	18
B	0	11	11
C	0	14	14
D	13	0	13
E	0	13	13
F	18	0	18
G	12	0	12
H	10	0	10
I	13	0	13

であり、3細胞及び4細胞幼胚と比較して高かった。仮根伸長がみられた終期発生段階の幼胚 (f) では、同割合は実験区 F, G, H, Iの結果から 100% (n=43) であった。

### 考 察

冷蔵保存後の幼胚の発芽率は、初期発生段階では 0～3割、中期発生段階では 7割程度であった。一方、仮根の伸長がみられた終期発生段階では全ての個体が正常に発芽した。京都府では、2016年までに冷蔵保存した幼胚の発芽率は約 80%で安定していた。しかし、2017年はアカモク養殖の規模拡大のため、冷蔵保存する幼胚の数を増やしたところ、発芽率は 50%程度に留まった。冷蔵保存に用いた幼胚には、2016年まではコンテナ等容器の底に自然落下した幼胚を、2017年には自然落下した幼胚に加え、まだ生殖器床に付着した状態から洗い流して強制落下させた幼胚を用いた。アカモク幼胚は、仮根の伸長に伴い生殖器床から自然落下する (河本ら, 1968) ことから、2016年以前と 2017年では冷蔵保存した幼胚の発生段階は異なっていたことが推定される。本研究結果から、2017年の発芽率の低下は、強制落下させた幼胚の中に、初期から中期発生段階の幼胚が一定数以上含まれていたことが影響したと考える。

初期から中期発生段階の幼胚の発芽率が低くなった要因を考察する。広江ら (1954) は、人工受精させた直後のアカモク幼胚を水温変化の大きい海水中 (9～17℃) と、変化の小さい海水中 (11～13℃) で培養したところ、前者の方が形態異常となる幼胚の割合が高くなったと報告した。今回の実験に用いた幼胚は、冷蔵保存の際に約 13.4℃の海水中から 5℃の冷蔵庫に保管されており、約 8.4℃の水温変化を経



**Fig. 3** Germination rate of *Sargassum horneri* embryos for each stage of development after refrigeration; see Fig. 1 for definitions of a–f.

験している。このことから、急激な水温変化は初期から中期発生段階の幼胚の発芽率が低くなる要因の一つと考えられる。なお、本実験の環境水温である約 13.4℃の遮光条件下において、初期から中期発生段階の幼胚が保存可能かどうかは、検証を行っておらず定かではない。しかし、当該水温で幼胚を長期保存する場合、5℃と比較すると保存海水の水質悪化を招く可能性は高い。さらに、水温 20℃の遮光条件下では全ての幼胚が死亡する (吉田ら, 2000) ことから、保存海水の水温を高めることで、幼胚が死亡する危険性は高まると考えられる。また、遮光を行わなかった場合には、幼胚は休眠すること無く発芽して生長し続けるため、当初の目的である培養期間の短縮は達成できない。以上のことから、アカモク幼胚の保存には、遮光と低温 (5℃) 条件下において、仮根の伸長が確認された終期発生段階の幼胚を用いることが適していると判断される。

幼胚の冷蔵保存を安定化させるためには、より多くの個体を仮根伸長有りの状態にして収容するのが望ましい。生殖器床から自然落下した幼胚のみを収集することで、仮根が伸長した幼胚の効率的な採取が可能である。水温 20℃前後で成熟するアカモクの幼胚は、生殖器床の表面に放出されてから 3～4日 で自然落下するとされている (河本ら, 1968)。ただし、ホンダワラ類の幼胚の発生速度は水温によって大きく異なる (川越ら, 2005)。京都府の養殖アカモクは水温 12℃前後で成熟することから、幼胚の自然落下までの日数が河本らの報告とは異なる可能性がある。したがって、自然落下した幼胚を効率良く集めるためには、京都府の養殖アカモクについて、幼胚の発生速度および自然落下までの日数等を明らかにする必要がある。

## 文 献

- アカモク養殖技術開発グループ. 2017. アカモク種苗の生産・養殖技術の開発. 海洋と生物, **39** : 400-406.
- 池原宏二. 1987. 日本海沿岸における食用としてのホンダワラとアカモク. 藻類, **35** : 233-234.
- 川越力, 谷敬志, Jeane Rimber INDY, 水田浩之, 安井肇. 2005. 異なる水温が北海道産フシスジモクの受精卵, 幼胚, 幼体に及ぼす影響. 水産増殖, **53** : 181-187.
- 河本良彦, 富山昭. 1968. ホンダワラ類の増殖に関する研究-I, クレモナ化繊糸による採苗, 培養について. 水産増殖, **16** : 87-95.
- 京都府農林水産技術センター海洋センター. 2016. 海藻アカモクの養殖技術. 季報第109号.
- 西垣友和, 山本圭吾, 遠藤光, 竹野功壘. 2010. 阿蘇海で養殖されたホンダワラ科褐藻アカモクの生長と生残. 京都海セ研報, **32** : 23-27.
- 西垣友和, 道家章生. 2014. 若狭湾西部海域におけるアカモク2個体群の生長および成熟. 京都海セ研報, **36** : 1-5.
- 西垣友和, 篠原義昭, 道家章生. 2016. アカモク養殖における種苗沖出し水深, 時期および固定間隔の成長, 生残および収量への影響. 京都海セ研報, **38** : 7-12.
- 西垣友和, 道家章生. 2016. 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). 京都海セ研報, **38** : 19-20.
- 広江三樹三郎, 猪野俊平. 1954. ホンダワラ属植物の異常胚について. 植物学雑誌, **67** : 233-237.
- 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.
- 吉田忠生. 1998. 「新日本海藻誌」. 386-387. 内田老鶴圃, 東京.