

アカモクの人工種苗生産試験

本田恵二

Artificial seedling production test of *Sargassum horneri* (Turner) C.Agardh

Keiji HONDA

As a test for the production of artificial seedlings of *Sargassum horneri*, a consistent culture experiment ranging from indoor to outdoor culture was conducted from mid-August to mid-March on 24 embryos of *S. horneri* that had been kept refrigerated at 5°C for two months, and 14 thalli of *S. horneri* were produced and transplanted to the existing artificial seaweed reefs. Based on the results of the experiment, it was considered effective in terms of promoting algal growth and deterring fish feeding damage if indoor culture was started in early July and transferred to an outdoor tank from mid-October to early November, and culture was continued until early to mid-December, when the water temperature was approximately 15°C, and then transplanted to the reefs.

キーワード：アカモク, 冷蔵幼胚, 培養, 伸長促進

アカモク *Sargassum horneri* (Turner) C.Agardh はホンダワラ科の一年生で、冬から春にかけて繁茂し、魚類の産卵場や幼稚魚等の隠れ場として重要な機能を果たすほか、健康食品への応用¹⁾や最近では温室効果ガスである CO₂の吸収源²⁾としてもその注目度が高まっている。

本県でも藻礁の設置により、アカモクを含むガラモ場の人工造成を進めているが、天然採苗によるところが大きい。そこでより効率的な藻場造成の推進に役立つため、アカモクの人工種苗生産試験に取り組んだ。ここでは、その生産方法を中心にマニュアル的に整理した。

濾過海水で洗浄した。その後 13L ポリバケツに収容し、上方 1 か所からホースで緩やかに濾過海水をかけながら保持した。翌日バケツの底の海水をピペットで 1mL ほど採取し、顕微鏡で検鏡して幼胚が確認されたので、幼胚の入っているバケツの海水を 3 種類の目合の篩 (1,000 μm⇒500 μm⇒300 μm) で順次濾過し、雑藻類等の夾雑物を取り除き幼胚約 70 個体を採取した。

なお本試験では、他の試験との関係で幼胚の培養開始を遅らせる必要があったため、得られた幼胚は滅菌海水で満たしたタッパーに入れ、アルミホイルで包装後約 2 か月冷蔵 (5°C) 保存した³⁾。

材料および方法

① 母藻の採集と幼胚の確保

当初 4~5 月に生殖器床の熟した母藻を採集し、幼胚を確保する予定だったが、思うように母藻が手に入らず、6 月 17 日に入手した母藻 (流れ藻で雌性生殖器床の一部に受精卵が付着していた) から何とか幼胚を採取することができた。入手した母藻については、付着藻類等の付着物を柔らかい羽根ブラシで払い落とし、

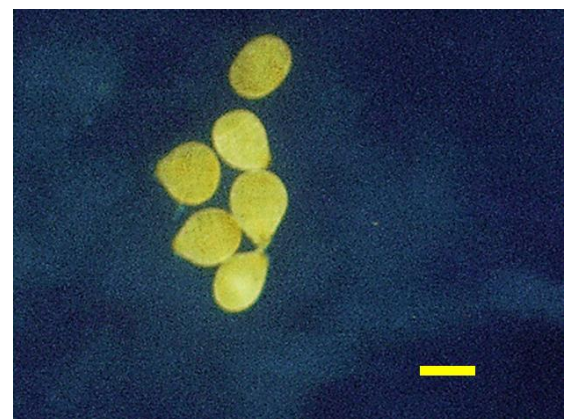


Fig.1 Collected *S.horneri* embryos. (Scale bar =200μm)

② 幼胚（体）の室内培養（8月17日から実施）

(1) マイクロプレートによる培養

冷蔵保存していた幼胚を滅菌海水で3回洗浄し、顕微鏡下で細胞分割の進んだ良好と思われるものを選別し、12ウェルマイクロプレートに2個体ずつ収容した。

幼胚数は多い方が良いが、作業の効率性やインキュベーター内での幼体の培養可能数量の限度を考慮すると、全部で100個体ぐらい（4マイクロプレート分）までが適当と思われた。

培地は処理海水に PESI原液⁴⁾ と珪藻の発生を抑制するため GeO_2 水溶液⁵⁾ をそれぞれ添加したもの（PESI培地）を使用した。培養温度は温度差の馴致を省略し⁶⁾、 20°C に設定した（Table1）。

Table 1 Culture regimes used in growth tests on *Sargassum homeri* embryos in a 12-well cell culture plate

| | |
|--------|--|
| PESI培地 | 1ウェルに滅菌海水4mL + PESI原液 40 μL + GeO_2 80 μL （0.1mg/mL調整 Stock solution：珪藻除去用） |
| 培養温度 | 20°C で開始 |
| 明暗サイクル | 12L:12Dで開始し、少しずつ明時間を 長くしていく |
| 光量 | 80~100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$. |

培地は4~5日間隔で交換した。途中で珪藻等が増えてきた時は、該当するウェルを適宜滅菌海水で洗浄し、さらにPESI原液の添加量を少し減らした。そうすることで、できるだけ培地をきれいな状態で保持した。

培養開始後1週間程度で幼胚が伸長し発芽体となり、第一初期葉を形成するとともに、仮根が伸出してマイクロプレートの底面に張り付き、容器を揺すっただけでは取れ難くなった（Fig.2）。

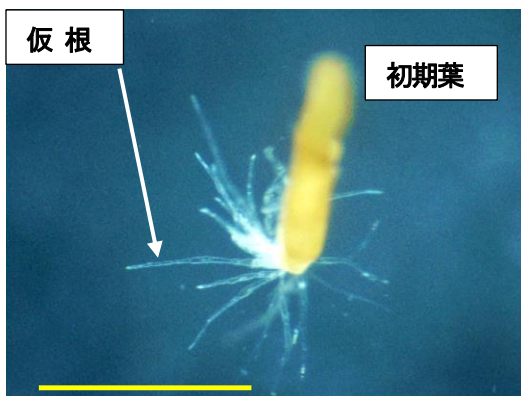


Fig.2 Early germling with first leaf and rhizoid after 7 days from the start of embryos culture. (Scale bar = 1mm)

培養を約1か月継続すると、さらに複数の葉が形成され幼体となった。この段階で成長の良好なものを選別し、仮根を実験用ナイフで切り取った後、新たに6ウェルマイクロプレートに1株ずつ移した（Fig.3）。

この頃までに少しずつ培養温度を $20^\circ\text{C} \Rightarrow 23^\circ\text{C}$ 、明暗サイクルを 12L:12D \Rightarrow 14L:10Dに変更していった。



Fig.3 *S.homeri* thalli in a 6-well cell culture plate after 37 days from the start of embryos culture.

6ウェルマイクロプレートに移動後は、培地がこぼれないようにマイクロプレートを毎日適宜ゆっくり揺すりながら培養を継続した。

6ウェルマイクロプレートでのPESI培地の使用量、その他の培養条件はTable2のとおり。培地は概ね4日間隔で交換し、珪藻等が混在する場合は別の新しいウェルを使用した。

Table 2 Culture regimes used in growth tests on *S.homeri* thallus in a 6-well cell culture plate

| | |
|--------|---|
| PESI培地 | 1ウェルに滅菌海水8mL + PESI原液 160 μL + GeO_2 80 μL （0.1mg/mL調整 Stock solution：珪藻除去用） |
| 培養温度 | 23°C |
| 明暗サイクル | 14L:10D |
| 光量 | 80~100 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$. |

(2) T型瓶による幼体培養

幼体がさらに成長し、葉が増えて6ウェルマイクロプレートで手狭になってきた段階で、500mL T型瓶に移し換えた。1瓶あたり3~4株程度とし通気を施した（Fig.4）。培地は概ね5日間隔で交換し、雑藻類等による培地の汚れがあれば、瓶も交換した。

幼体がさらに成長して500mL瓶で手狭になってき場合は、1LT型瓶に移し換えた（1瓶に2株程度）。

500mL瓶並びに1L瓶を使用した時の培養条件は、それぞれTable3並びにTable4のとおり。



Fig.4 *S. horneri* thalli in culture in 500 ml bottles after 67 days from the start of embryos culture.

Table 3 Culture regimes used in growth tests on *S.horneri* thalli in a 500mL bottle

| | |
|--------|---|
| PESI培地 | 滅菌海水 300mL + PES I 原液 3mL + GeO ₂ 300 μL (1mg/mL 調整 Stock solution : 珪藻除去用) をベースとし、藻類及び培地の状態により、海水量並びに添加分量を若干調整。 |
| 培養温度 | 23°Cから5日間かけて少しずつ25°Cまで上げる。25°Cは3日間程度とし、その後5日間かけて22°Cまでに下げ、さらに少しずつ20°Cまで下げていく(10月中旬頃まで)。10月下旬から12月下旬にかけて20°Cから14°Cまで少しずつ下げていく。 |
| 明暗サイクル | 14L:10D(23°C)で開始し、以後13L:11D(25°C)⇒12L:12D(22°C)⇒11L:13D(20°C)と10月中旬頃までに少しずつ温度を下げながら明時間も短くしていく。11月中旬まで11L:13D。11月下旬以降は10L:14D。 |
| 光量 | 80~100μmol/m ² /sec. |

Table 4 Culture regimes used in growth tests on *S.horneri* thalli in a 1L bottle.

| | |
|--------|--|
| PESI培地 | 滅菌海水 600mL + PES I 原液 6mL + GeO ₂ 1mL (1mg/mL 調整 Stock solution : 珪藻除去用) をベースとし、藻類及び培地の状態により、海水量並びに添加分量を若干調整。 |
| 培養温度 | 1L瓶に入れ替えた時点以降500mL瓶の条件と同じ。 |
| 明暗サイクル | 1L瓶に入れ替えた時点以降500mL瓶の条件と同じ。 |
| 光量 | 80~100μmol/m ² /sec. |

③ 幼体の屋外水槽培養

幼体の成長具合を考慮して、11月中旬~12月下旬に順次、屋外水槽(2か所:主に0.9m×1.28m×0.4mの角型・R型水槽を使用)へ瓶ごと(蓋を除く)移して培養を継続した。ただ水槽へ移行後、成長が思わしくなかった2株は、1月下旬に再度インキュベーターに収容した。

屋外水槽では、培養瓶を針金で水槽の淵に引っ掛けるように吊るし、また藻類が流出ないように瓶の上端が水槽の水面より上に出るように固定した。さらにドリルで瓶の側面に小穴をあけて、内部の水の流れを確保するように注意した。水槽には濾過海水で流水をかけながら(主水槽では1.26t/h)、通気も行った(Fig.5)。



Fig.5 Growth tests on *S.horneri* thalli in the square tank. (0.9m×1.28m×0.4m)

幼体がさらに成長して培養容器が1L瓶で手狭になった段階で、トリカルネットで製作した容器に幼体を移して培養を継続した(Fig.5,6)。



Fig.6 *S.horneri* thalli cultured in a circular container made of trical net.

トリカルネット製の容器は、57cm×50cmサイズのトリカルネットを円柱状にし、その中に白いプラスチック製の丸籠（上径17cm）をネットの下端から11cmの位置にその底面がくるように挟み込み、さらにネットの両端を結束バンドで固定して製作した（高さ50cm、直径17cm）。

そして培養中に容器内の海水の流れを良くするため、丸籠より上側のネット側面全体に3cm×3cmの正方形の穴が均等に形成されるように、ハサミで切断加工した（Fig.6,7）。



Fig.7 A container for transplanting *S.horneri* thallus to be placed on the artificial seaweed reefs. A round white plastic basket containing a 1kg sandbag was inserted into a cylindrical shape made of trical net and fixed in place.

④ 藻礁へ移植

(1) 取り付け（移植）準備

藻礁上への培養株の移植は、屋外培養で使用したトリカルネット製の容器をそのまま活用し、人工藻礁（以下「藻礁」と呼ぶ）に取り付けることにより行った。

また容器を安定させるため、白い丸籠の中に1kgの砂（三角コーナー用水切りごみ袋に入れてさらに収穫ネットで取り囲んだもの）を入れた。

容器へのアカモク幼体の取り付けは、容器内の丸籠のすぐ上あたりに同じ高さでネット間をロープで結び、その間にアカモクの培養株（幼体）を挟み、両端を糸で結び固定した。原則1容器に1株としたが、サイズの小さかった株については、2株ずつ挟み込んだ。

藻礁への設置は、3容器を1組とし、結束バンド等で固定した。その内1つの容器の上端に、魚の食害防止用として正方形のネット（トリカルネット）を被せた（Fig.8）。



Fig.8 *S. horneri* thalli in the containers after 200 days from the start of embryos culture and before being transplanted into the artificial seaweed reefs.

(2) 取り付け（移植）とその後

3月14日に潜水作業により、幼体が入った3組の円形容器（合計9容器、14株）を藻礁上に取り付けた。取り付けは藻礁の貝殻パイプの網目とトリカルネットの網目を複数の結束バンドで固定して行った（Fig.9）。

また、4月21日に潜水調査を実施し、アカモクの幼体のその後の成長状況を確認した。



Fig.9 The containers carrying *S.horneri* thalli just after placed on the artificial seaweed reefs.

結果および考察

2 か月間 5°C で冷蔵保存した後、20°C で 24 個体の幼胚の培養を開始し、16 個体が発芽したが、うち 2 個体はその後の成長が芳しくなく枯死した。

発芽しなかった原因が、温度馴致を省略したことによるものか否かは不明であるが、培養に供さなかった残りの幼胚は、冷蔵後黒ずんでいるものが比較的多く、死卵も見られ状態的にはあまりよくなかった。幼胚を 2 か月間冷蔵保存する場合の不適合密度として 10 個体/mL 以上が報告されており⁶⁾、この値は筆者が行った冷蔵密度 (約 0.3 個体/mL) よりはるかに大きいことから、収容密度が直接の原因とは考えられなかった。幼胚採取時に洗浄を徹底する等、今後注意が必要と思われた。

幼体に達した 14 株のうち、成長の最も早いもので 12 月中旬頃に茎が伸長し始めたが、1 月 22 日測定で全長 (藻体を伸ばした時の茎や側枝の先端までの最大長) は最大約 11cm で、一般的な成長と比べるとかなり小さめだった (Fig.10)。



Fig.10 *Shorneri* thalli after 158 days from the start of embryos culture. Branches forming pinnatiparited blades. Shoot elongation was observed.

それでも 3 か月後 (藻礁に設置して 38 日後) の 4 月 21 日、成長の早かった 2 株は全長約 60~70cm に達しており、藻体の一部に生殖器床 (雌雄性は未確認) の形成が確認された (Fig.11)。その一方で成長の遅れていた残りの 12 株はあまり成長していなかった。

潜水調査時、藻礁の周囲並びにトリカルネット製容器の下方に他の藻類がかなり付着しており、藻体のサイズが小さい分だけ、こうした着生藻類の陰に隠れてしまい、光合成が阻害され、成長がさらに遅れたことが一因と考えられた。移植に際しては、ある程度の大きさに成長 (伸長) した株が望ましいと思われた。

過去の冷蔵幼胚の培養実験 (8 月下旬に屋外水槽で培養開始) では、冷蔵期間が長くなり培養開始時期が遅れるほど、冷蔵なしの場合と比べ初期成長期から伸長期への移行が遅れるが、生殖器床を形成する時期は



Fig.11 *Shorneri* thallus after 38 days of transplanting on the artificial seaweed reefs. Some receptacles were confirmed.

ほぼ変わらないとされている⁷⁾。培養条件が今回の試験とは相違しており、単純に比較はできないものの、やはり培養開始の遅れが、結果的にサイズの面で成長の遅れにつながったものと推測された。

天然の個体群では、秋から冬にかけての日長時間の短日への移行が、アカモクの伸長を引き起こしていると推測されており⁸⁾、冷蔵処理をしていないアカモクの幼胚の培養実験でも、明条件を 16 hL から 12 hL に変換して 2 週間後に茎の伸長が顕著に促進されたことが報告されている⁹⁾。ただ今回の試験では、室内培養中に明条件を 14hL から 11 hL に少しずつ短縮した後、1 か月経過してもその様な状況は確認されず、屋外培養に移行した後に明確な茎の伸長が始まった。この相違が幼胚の冷蔵処理の有無に関係しているか否かは不明であるが、いずれにしても、室内培養と屋外培養を併用して冷蔵幼胚を用いた種苗生産を行う場合は、室内培養を前倒しして、幼体の伸長期への移行をなるべく遅らせないようにすることが必要と考えられた。

本試験では室内培養開始から屋外培養に移行するまで、幼体により差はあるが概ね 3~4 か月を要した。

そこで室内培養を 7 月上旬に開始し、10 月中旬から 11 月上旬までに屋外水槽に移して藻体の伸長を促し、さらに 12 月上旬頃まで培養を継続して、藻礁に移植することを提案したい。

本県の 12 月上旬の海水温は概ね 14~15°C で、これは海域でのホンダワラ類の伸長に最適な温度である¹⁰⁾ うえ、植食性魚類であるアイゴの採食行動がほぼ停止する温度と報告されており¹¹⁾、移植後の食害を抑止する面でも効果的と思われる。

室内培養期間中は、培養温度と明暗サイクルを現場の条件に近づけて調整することが望ましいと考えるが、最高温度は初期成長の最適条件等^{12,13)} から 25°C 程度に留めておく方が無難であろう。

ただ種苗を大量に生産することを想定すると、やは

り室内培養では限度があり、屋外培養から始める方が適当で、作業の省力化も図られやすいと思われる。

大まかには幼胚採取後、すばやく屋外水槽内に設置したレンガブロック（付着基質）に播種し、幼胚がブロックに着生後そのまま培養を継続するか、または一旦短期冷蔵した後に屋外水槽に移して培養を続け、ある程度のサイズに成長した幼体をブロックごと藻礁に設置するという流れになるが、屋外培養では夏季の猛暑時期の水温上昇をはじめ、時期によって珪藻類や付着藻類等の増殖で、幼体の成長に影響が及ぶことが十分懸念される。そのあたりの人為的な管理がどこまで可能かということに尽きるであろう。

謝 辞

今回の試験を進めるにあたり、終始貴重な助言を頂いた水産技術研究所 環境・応用部門 吉田吾郎 博士に深謝します。また、室内培養に関して有益な情報を頂いた香川県水産課 藤原宗弘 博士、培養作業全般に協力頂いた本試験場 明石英幹 氏に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 黒田理恵子・上田京子・木村太郎・赤尾哲之・篠原直哉・後川龍男・深川敦平・秋本恒基：2007, 福岡県筑前海産褐藻アカモク *Sargassum horneri* の成熟と粘質多糖量の変化. 日水試, 74, 166-170.
- 2) Watanabe K., Yoshida G., Masakazu H., Umezawa Y., Moki H. and Kuwae T. : 2020, Macroalgal metabolism and lateral carbon flows can create significant carbon sinks. Biogeosciences, 17, 2425-2440.
- 3) 吉田吾郎・吉川浩二・寺脇利信：2000, 定温保存したアカモク幼胚の発芽率と成長. 日水誌, 66, 739-740.
- 4) Tatewaki M. : 1966, *Phycologia*, 6, 62-66.
- 5) 館脇正和：1979, 藻類研究法（西澤一俊・千原光雄編）, 共立出版, 65-66.
- 6) 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. 京都府海洋センター研究報告, 38, 19-20.
- 7) 吉田吾郎・吉川浩二・内村真之・寺脇利信：2001, 一年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.
- 8) Uchida T. : 1993, The life cycle of *Sargassum horneri* (Phaeophyta) in laboratory culture. *J. Phycol.*, 29, 231-235.
- 9) 吉田吾郎・有馬郷司・内田卓志：1995, 褐藻アカモクの初期成長に及ぼす日長, 照度, 水温の影響. 南西水研研報, 28, 21-32.
- 10) 梅崎勇：1985, ホンダワラ群落の周年変化. 海洋科学, 175, 32-37.
- 11) 長谷川一幸・磯野良介・島隆夫・渡邊幸彦・渡邊裕介・箕輪康：2018, 低水温期におけるアイゴ未成魚のアラメ摂餌と水温の関係. 海生研研報, 23, 65-68.
- 12) 馬場将輔：2007, ホンダワラ類8種の初期成長に及ぼす温度と光量の影響. 海生研研報, 10, 9-20.
- 13) 吉田吾郎：2005, 広島湾における褐藻アカモクのフェノロジーとその個体群間分化に関する研究. 水研センター研報, 15, 78-81.

要 旨

アカモクの人工種苗の生産試験として、2か月間5°C冷蔵保存した24個体のアカモクの幼胚を対象に、8月中旬から3月中旬まで室内培養から屋外培養に及ぶ一貫した培養実験を行い、14株の幼体を生産し、既設の藻礁に移植した。実験結果に基づくと、7月上旬に室内培養を開始して10月中旬～11月上旬に屋外水槽に移し、さらに水温が概ね15°Cとなる12月上旬～中旬まで培養を継続して藻礁に移植すれば、藻体の伸長促進と魚の食害抑止の面でも効果的と考えられた。