

【事業報告】

県産海藻類安定生産に向けた技術開発のための基礎研究 (水産海洋研究費 (県単独事業))

前兼久郁*, 宇地原志帆¹, 須藤裕介

Basic research on technology development for the stable production of Okinawan seaweeds

Kaoru Maeganeke*, Shiho Uchihara and Yusuke Sudo

クビレズタ養殖中に発生する白化・溶け現象の一因と考えられる藻体の成熟について、その誘導条件を検討するため、温度、塩分、施肥量および植物生長調整剤添加を組み合わせた探索的な室内試験を実施した。直立枝の先端部から切り出した藻体片を前培養した後、各試験条件下で通気培養し、成熟の有無を経時的に観察した。その結果、本試験条件においては成熟藻体の誘導を確認できなかった。高濃度施肥条件下では雑藻が著しく繁茂し、経時観察が困難であった一方、低施肥条件では雑藻の繁茂が比較的軽微であり、藻体の状態を明瞭に観察することができた。今後の研究では、雑藻の繁茂を抑制できる条件を確保したうえで、成熟誘導に有効な培養条件を引き続き探索する必要がある。

ヒトエグサの人工採苗技術確立に向け、接合子の管理方法の検討、人工採苗網を用いた養殖試験、養殖海域における藻体の成熟周期調査を行った。接合子をプラスチック板に付着させて水槽に収容する方法、寒天培地に塗布する方法、液体培地中で浮遊培養する方法の3通りを比較したところ、プラスチック板で管理した接合子の生長が最も良好であった。人工採苗網では北中城村で芽出しがほとんど確認されず、恩納村では対照網を含めて芽出しが確認された。配偶子放出数は恩納村で満月直前かつ中潮から大潮にかけて多く、北中城村では小潮が多かった。今後は人工採苗網の張り出し時期等を検討するとともに、人工採苗技術確立に向けた調査を継続する。

本県では、モズクやクビレズタ、ヒトエグサといった海藻類の養殖が盛んに行われており、その産出額は、県内水産養殖業による産出額の5割以上を占めている(第52次農林水産統計年報より算出)。海藻類の養殖業は本県水産業を支える基幹産業といえるが、その養殖技術には未だ多くの課題が残されている。クビレズタでは、養殖中や出荷後に藻体が大規模に白化し溶ける現象が生じ、品質や生産量の低下を招いている。また、ヒトエグサでは、海域に養殖網を張り出して遊走子を着生させる「天然採苗」により種付けが行われているが、採苗の成否が漁場の遊走子放出量の変動に大きく左右されるため、生産が不安定となっている。本事業では、これら海藻養殖における課題の解決に向けて、いくつかの基礎研究を実施した。

材料及び方法

(1) クビレズタの成熟誘導試験

これまでの調査から、クビレズタの大規模な白化・溶けには藻体の成熟が関与している可能性が示唆されている。溶けの一因と考えられる藻体の成熟について、その過程と誘導条件を検討するため、試験1~4(表1)の条件で探索的な室内実験を試みた。供試藻体には、当センターの屋内飼育棟で養殖した藻体のうち、養殖棚上で5cm以上に生長した直立枝を

採取して用いた。解剖用メスで採取した直立枝の先端を同じ長さ(約2cm)に切り出すことで、供試藻体の初期状態を揃えた。切り出した藻体片は、温度25℃、明期12時間、暗期12時間(以下、L:D=12:12)の条件で培養した後、各試験区に供した。本報告では、切り出した藻体片を各試験区に移す前の期間を「前培養期間」、各試験区に移行した後の期間を「試験期間」とした。試験期間中の明暗周期は、いずれの試験区においても前培養期間と同条件とし、培養は人工気象器内で通気しながら行った。各試験では経時的に藻体の観察と撮影を行い、藻体表面に網目構造が形成されたものを成熟藻体と判定した。なお、撮影時には換水を行った。試験1および試験2では、成熟の有無に加え、付随する情報として各培養条件下における藻体の生長および形態変化を把握するため、撮影画像を用いて形態指標を測定した。形態指標として、総直立枝長、総匍匐茎長、直立枝数、匍匐茎数、小枝数および小枝密度を用いた。各指標の測定にはImage J(Schneider *et al.* 2012)を用いた。小枝密度(直立枝1cmあたりの小枝数)は、各個体の小枝数を総直立枝長(mm)で除し、1cmあたりの値に換算するため10を乗じて算出した。

1) 温度、塩分、施肥量の組み合わせ

無作為に選定した40本の藻体片を、滅菌海水(塩分36)

*E-mail: megnekuk@pref.okinawa.lg.jp 本所 ¹現所属: 北部農林水産振興センター農業水産整備課

に藻類培養液 KW21 (株式会社ダイイチ, 熊本県) を 500 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で 7 日間前培養した。その後、前培養と同条件 (培養温度 25°C, 塩分 36, KW21 添加量 500 $\mu\text{L/L}$) で培養を継続した区を対照区 (以下, 25-36-500 区) とし、培養温度のみを 30°C に変更した区 (以下, 30-36-500 区)、培養温度を 30°C に変更するとともに、滅菌海水と蒸留水を混合することで塩分を 18 に調製した区 (以下, 30-18-500 区)、培養温度を 30°C, KW21 添加量を 1000 $\mu\text{L/L}$ に変更した区 (以下, 30-36-1000 区) の計 4 試験区を設けた。各試験区には藻体片を 10 本ずつ供し、5 日間培養した。換水および藻体の撮影は、前培養期間の開始時、3, 5, 7 日目ならびに試験期間の 3, 5 日目に実施した。

2) 温度と植物生長調整剤の組み合わせ

植物生長調整剤が成熟に及ぼす影響を検討するため、調整剤の一種であるジベレリン A₃ (ナカライテスク株式会社, 京都府, 以下, ジベレリン) の添加と培養温度を組み合わせた試験を実施した。無作為に選定した 60 本の藻体片を、滅菌海水に KW21 を 500 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で 3 日間前培養した。その後、温度 2 段階 (25, 30°C) と培地中のジベレリン濃度 2 段階 (0, 500 μM) を組み合わせた計 4 試験区に、藻体片を各 15 本ずつ供し、11 日間培養した。換水および藻体の撮影は、前培養期間の開始時、3 日目ならびに試験期間の 3, 8, 11 日目に実施した。

3) 温度と施肥量の組み合わせ

無作為に選定した 32 本の藻体片のうち 16 本を、滅菌海水に KW21 を 500 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で、残りの 16 本を、滅菌海水に KW21 を 50 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で 6 日間前培養した。その後、各区の藻体を 5 cm $\times$ 5 cm のトリカルネット上に 8 本ずつ並べ、同サイズのトリカルネットを上から重ねることで藻体を挟んで固定した。トリカルネットに挟んだ藻体は、前培養と同じ KW21 濃度の培地を用いて、25°C もしくは 30°C で培養した。これにより、温度 2 段階 (25, 30°C) と KW21 添加量 2 段階 (50, 500 $\mu\text{L/L}$) を組み合わせた 4 試験区を設定した。換水および藻体の撮影は、前培養期間の開始時、6 日目ならびに試験期間の 3, 9, 15, 24 日目に実施した。

4) 温度と塩分の組み合わせ

水温の上昇に加え、降雨に伴う塩分低下が成熟の誘因となる可能性を検討するため、培養温度と塩分条件を組み合わせた試験を実施した。無作為に選定した 32 本の藻体片を、滅菌海水 (塩分 36) に KW21 を 500 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で 3 日間前培養した。その後、藻体を 5 cm $\times$ 5 cm のトリカルネット上に 8 本ずつ並べ、同サイズのトリカルネットを上から重ねることで藻体を挟んで固定した。トリカルネットに挟んだ藻体を、培養温度 30°C, 塩分 4 段階 (36, 30, 25, 20) の 4 試験区に供し、KW21 を 50 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した培地で 29 日間培養した。塩分 36 の培地には滅菌海水をそのまま用い、塩分 30, 25, 20 の培地は滅菌海水と蒸留水を混合して各塩分に調整した。換水および藻体の撮影は前培養期間の開始時、3 日目ならびに試験期間の 11, 23,

29 日目に実施した。

(2) ヒトエグサの人工採苗確立に向けた調査

1) 接合子の培養と人工採苗網養殖試験

接合子の適切な管理方法を検討するため、2024 年 3 月～4 月に恩納村屋嘉田または北中城村美崎で採取したヒトエグサ藻体から得られた接合子を、プラスチック板に付着させて水槽内に収容する方法、寒天培地上に塗布する方法、および液体培地中で浮遊培養する方法の 3 通りで管理し、定期的に直径の計測を行った。

また、人工培養種苗の漁場での生育状況を確認するため、恩納村と北中城村での養殖試験を実施した。プラスチック板で培養したそれぞれの産地の接合子に、2024 年 10 月 18 日より暗処理及び高温処理を施し、恩納村産は 2024 年 10 月 31 日に、北中城村産は 2024 年 11 月 14 日に遊走子を放出させて網に付着させた。遊走子を付着させた人工採苗網は、採苗の翌日に、遊走子を付着させていない網 (対照網) とあわせて、それぞれの養殖場へ試験的に張り出した。

2) 養殖海域における藻体の成熟周期調査

配偶子放出量の時期的変化を把握するため、2025 年 1 月 15 日から 2 月 20 日の間、恩納村屋嘉田のヒトエグサ養殖場において、特定の位置に設置された養殖網 5 か所からヒトエグサ藻体を採取した。採取は基本的に 2～4 日に 1 回実施した。採取した藻体を水産海洋技術センターに持ち帰り、洗浄後、水切り器で一定回数水を切った。その後、各試料から藻体を 3g 計量し、ろ紙を敷いたカップに入れ、20°C の暗所に静置した。20～24 時間後、それぞれのカップに滅菌海水 100ml を加え、光照射 (100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) を行った。各カップに放出された配偶子数は、血球計算盤を用いて計数した。

また、同様の測定を北中城村美崎のヒトエグサ養殖場で採取した藻体を用いて実施した。2025 年 2 月 26 日から週 1～2 回程度の頻度で、養殖場西側に設置された養殖網および養殖場東側の岩に着生した藻体をそれぞれ 5 か所から採取した。

結果及び考察

(1) クビレズタの成熟誘導試験

各試験における培養条件および成熟の有無を表 1 に示した。温度、塩分、施肥量および植物生長調整剤添加を組み合わせた 4 つの試験により、クビレズタの成熟誘導を試みた結果、いずれの試験においても藻体表面に網目構造を形成した成熟藻体は確認されなかった。一方で、各培養条件下では、藻体の生長や雑藻繁茂の程度等に違いがみられた。そこで以下では、成熟誘導の成否を示した上で、各試験における形態指標の変化や培養上の課題について整理した。

1) 温度、塩分、施肥量の組み合わせ

本試験では、いずれの培養条件においても成熟した藻体は確認されなかった (表 1)。

表1 各試験区における培養条件および成熟判定結果

前培養				試験期間					
試験	温度 (℃)	KW21 (μL/L)	日数	温度 (℃)	塩分	KW21 (μL/L)	ジベレリン (μM)	日数	成熟
試験 1	25	500	7	25	36	500	-	5	無
					36	500			無
				30	18	500			無
					36	1000			無
試験 2	25	500	3	25			0	11	無
					36	500	500		無
				30			0		無
試験 3	25	500	6	25		500	-	25	無
				30					無
		50		25					無
				30	50				無
試験 4	25	500	3		36		-	29	無
				30	30	50			無
					25				無
					20				無

前培養期間中, 総直立枝長および小枝数は緩やかに増加した (図1). 試験期間中にも複数の条件で総直立枝長, 直立枝数および小枝数の増加がみられ, 30-36-1000 区では総直立枝長および小枝数が比較的高い値を示した. また, 30-36-500 区

では総匍匐茎長および匍匐茎数がやや高い値で推移した. 一方, 小枝密度には条件間で変動がみられたものの, 明瞭な違いはみられなかった. ただし, 本試験では雑藻の繁茂が著しく, 前培養終了時点で藻体表面への雑藻の付着が認められ

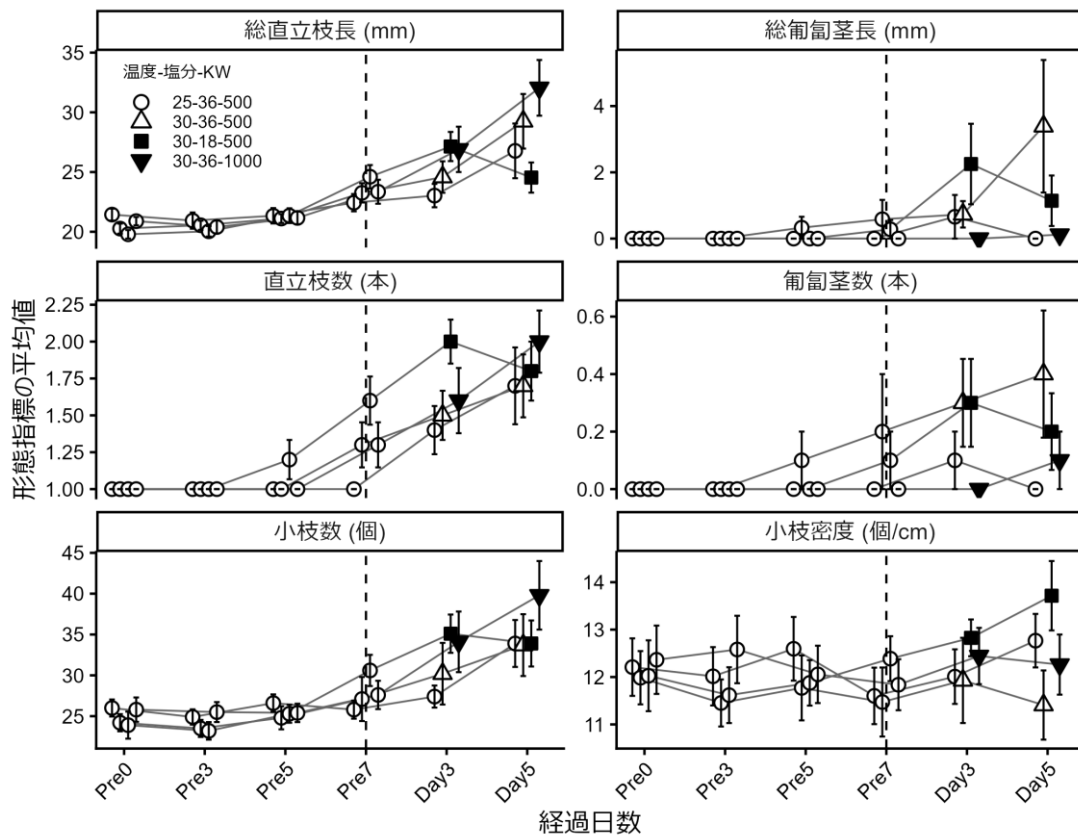


図1 試験1におけるクビレズタの形態指標の経時変化

図中のマーカーは平均値を, エラーバーは標準誤差をそれぞれ示す. Pre0~Pre7 (縦破線) までは前培養期間を示す. 凡例は, 試験期間の培養条件を温度 (°C), 塩分, KW 添加量 (μL/L) の順に示す.

た。その後、試験期間3日目頃には雑藻の繁茂が顕著となったため、5日目で試験を終了した。そのため、本試験でみられた形態指標の変化について、温度、塩分およびKW21添加量の影響を明確に評価することは困難であった。

また、本試験では、切断後の回復期間として7日間の前培養を設けたが、前培養中の観察では、3日目頃から切断部位での仮根の形成および発達が認められたことから、前培養期間は3日程度に短縮できる可能性がある。今後は前培養期間を短縮して各処理後の試験期間を十分に確保するとともに、雑藻の繁茂を抑制した条件下で、温度、塩分およびKW21添加量を含む成熟誘導条件を再検討する必要がある。

2) 温度と植物生長調整剤の組み合わせ

本試験で設定したジベレリン濃度、培養温度および培養期間では、成熟した藻体は確認されなかった(表1)。

前培養期間中は、総直立枝長、総匍匐茎長、直立枝数、匍匐茎数および小枝数のいずれにも大きな変化はみられなかった(図2)。試験期間中には新たな直立枝および匍匐茎の形成が認められ、総直立枝長、総匍匐茎長、直立枝数および匍匐茎数は、いずれも25℃区より30℃区で高い傾向を示した。一方、ジベレリン添加による明瞭な影響は認められなかった。小枝数はいずれの条件でも試験期間8日目頃にかけて増加し、その後は頭打ちとなる傾向を示した。一方、小枝密度は25℃区でおおむね一定に推移したのに対し、30℃区では試験期間中に低下する傾向がみられた。このことから、高温

条件では直立枝の形成および伸長が促進された一方で、単位長さ当たりの小枝数は減少し、粒付きが疎になる傾向がみられた。また、30℃区では雑藻の繁茂も早く、試験期間8日目頃から増加が目立ち始め、11日目には藻体が雑藻に覆われて形態観察が困難となった。

以上より、本試験ではジベレリン添加による明瞭な影響は認められなかった一方、高温条件では栄養生長の促進、小枝密度の低下および雑藻繁茂がみられた。今後はこれらの結果を踏まえ、植物生長調整剤の種類、濃度および処理期間を含め、成熟誘導に有効な条件を引き続き探索する必要がある。

3) 温度と施肥量の組み合わせ

本試験で設定した温度、KW21添加量および培養期間では、成熟した藻体は確認されなかった(表1)。

前培養期間中には、KW21添加量の違いによる顕著な形態差は認められず、いずれの条件においても仮根の形成が観察された。一方、試験期間中には、KW21添加量および培養温度により、藻体の生長や雑藻繁茂の程度に違いがみられた(図3)。KW21を50 $\mu\text{L/L}$ となるように添加した試験区では、培養温度によらず雑藻の繁茂は比較的軽微であり、試験後半には匍匐茎の伸長が顕著となった。このことから、KW21添加量を低くすることで雑藻の繁茂をある程度抑制できる可能性が示された。また、試験後半に匍匐茎が伸長した要因の一つとして、今回の換水頻度では藻体の生長に伴って栄養塩類が相対的に不足したことが考えられる。一方、KW21を

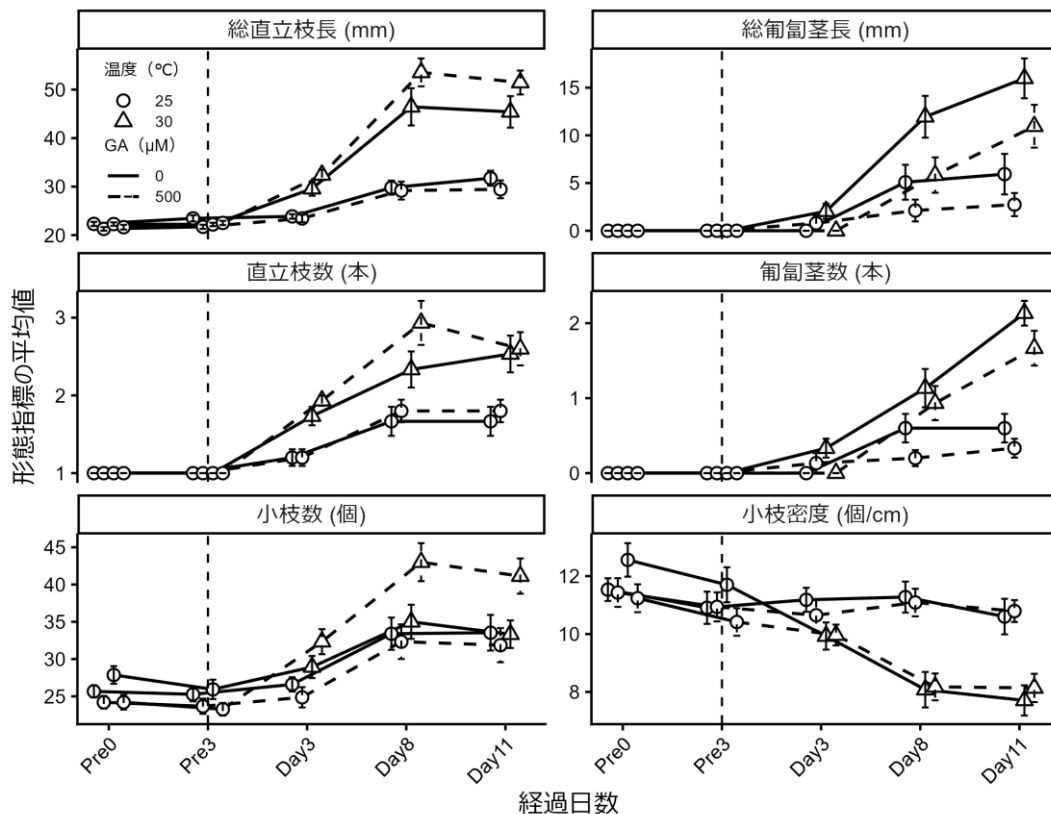


図2 試験2におけるクビレズタの形態指標の経時変化

図中のマーカーは平均値を、エラーバーは標準誤差をそれぞれ示す。Pre0～Pre3(縦破線)までは前培養期間を示す。マーカーの形は温度条件、線種はジベレリン濃度をそれぞれ示す。

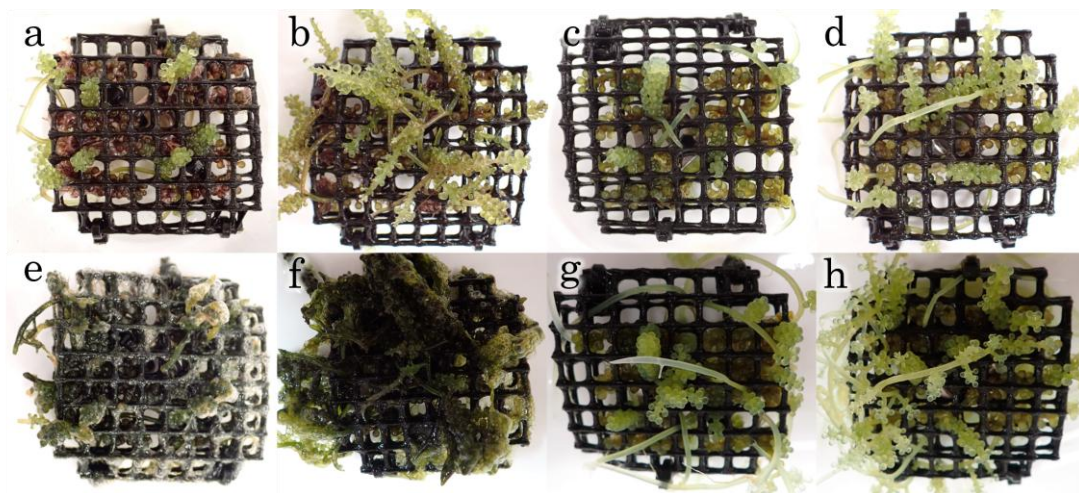


図3 試験3における温度および施肥量別のクビレズタの培養状況

試験期間9日目および24日目における各試験区の藻体を示す。a～dは試験期間9日目、e～hは試験期間25日目を、aおよびeは25℃・KW21 500μL/L区、bおよびfは30℃・KW21 500μL/L区、cおよびgは25℃・KW21 50μL/L区、dおよびhは30℃・KW21 50μL/L区をそれぞれ示す。

500 μL/L となるように添加した試験区では雑藻の繁茂が著しく、試験期間15日目には藻体が雑藻に覆われた。特に30℃ではその傾向が強く、培養初期の直立枝形成および伸長は比較的良好であったものの、試験中盤以降は雑藻繁茂の影響により藻体の形態観察が困難となった。

以上より、本試験では成熟の誘導には至らなかったものの、施肥量および培養温度の組み合わせにより、藻体の生長や雑藻繁茂の程度に違いがみられた。今後は、藻体の成熟状態を安定して観察するため、雑藻の繁茂が少ない施肥・培養条件を検討する必要がある。

4) 温度と塩分の組み合わせ

本試験では成熟した藻体は確認されなかった(表1)。試験期間中はいずれの試験区でも雑藻の繁茂は少なく、藻体の状態を比較的明瞭に観察することができた(図4)。塩分36区では、試験初期に直立枝が複数形成され、試験終盤には匍匐茎が伸長した。塩分30区では、試験中盤までは塩分36区と同様の傾向を示したが、試験終盤には直立枝の白化が認められた。塩分25区では、試験中盤に直立枝の白化が認められた。塩分20区では、直立枝および匍匐茎の形成数が少なく、

その長さも短かったうえ、試験中盤には白化が認められた。以上より、本試験では塩分低下に伴って直立枝の白化がより早期に出現する傾向がみられ、低塩分条件が藻体にストレスを与えた可能性が示唆された。ただし、本試験ではKW21を全試験区で等量添加したものの、滅菌海水を蒸留水で希釈して塩分を調整したため、海水由来の各種イオン濃度も塩分とともに変化していたと考えられる。そのため、観察された白化を塩分低下のみの影響と断定することは難しい。今後は人工海水等を用いて塩分以外の成分を一定に保った条件で、低塩分が藻体の白化および成熟に及ぼす影響を再検討する必要がある。

(2) ヒトエグサの人工採苗確立に向けた調査

1) 接合子の培養と人工採苗網養殖試験

それぞれの管理方法で培養した接合子の大きさの中央値を図5に示した。寒天上で培養した接合子は10～20μmほどの大きさで生長が停滞した。一方、プラスチック板に付着させて培養した接合子は、9月頃には約60μm前後まで生長した。また、液体培地で浮遊培養した接合子は、培養開始から

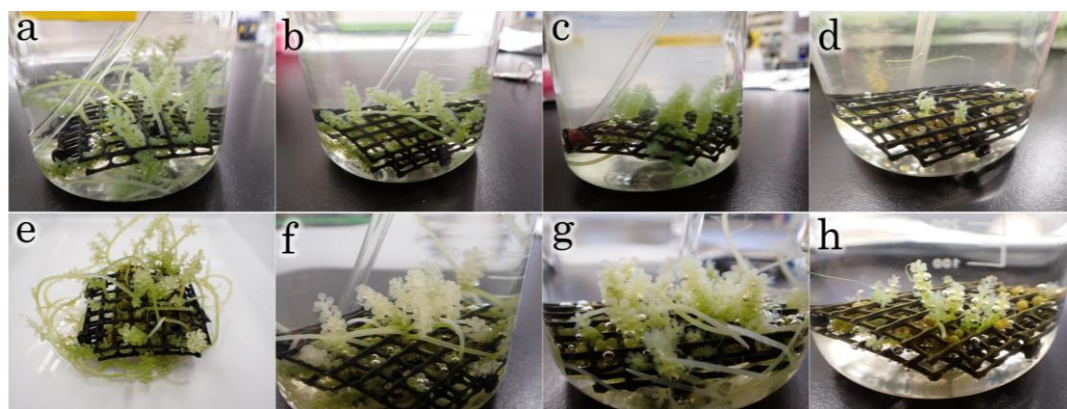


図4 試験4における塩分条件別のクビレズタの培養状況

試験期間11日目および29日目における各試験区の藻体を示す。a～dは試験期間11日目、e～hは試験期間29日目を、aおよびeは塩分36区、bおよびfは塩分30区、cおよびgは塩分25区、dおよびhは塩分20区をそれぞれ示す。

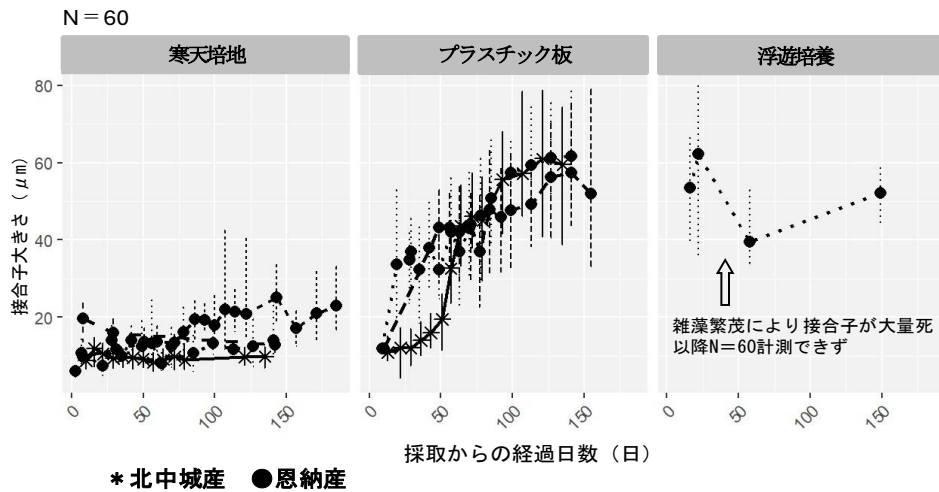


図5 管理方法別の接合子の生長推移

1 か月で 50 μ m 程度に達したが、雑藻（褐藻）が大量に増殖して接合子を覆ったため、途中から測定が困難となった。なお本試験では、測定値のばらつきが大きかったことから、今後は測定方法について再検討する必要がある。

養殖試験の結果、恩納村では人工採苗網と対照網の両方でヒトエグサ幼芽の芽出しが確認された。これは、網を張り出した時期が 11 月上旬であったため、天然の遊走子が両網に付着した可能性が考えられる。今後試験を行う際には、天然の遊走子が少ない時期に張り出しを行う等、養殖網の設置時期を検討する必要がある。一方、北中城村の養殖試験では、人工採苗網および対照網に雑藻が大量に付着し、芽出しはほとんど確認されなかった。

2) 養殖海域における藻体の成熟周期調査

恩納村で採取した藻体から放出された配偶子数を図 6 に示した。当地点では、満月直前かつ中潮から大潮にかけて採取された個体で、配偶子の大量放出が確認された。今後、人工採苗に用いる母藻の採取時期をこのタイミングに合わせる

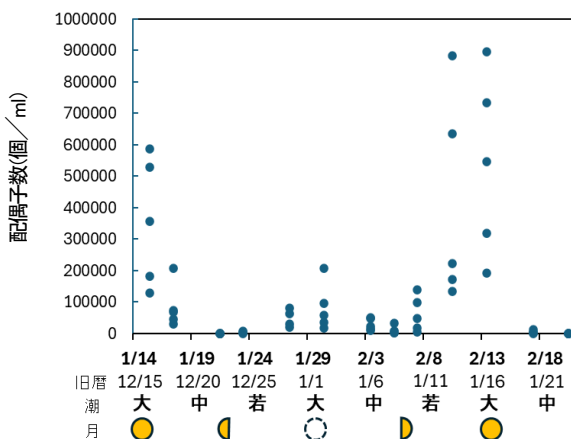


図6 恩納村屋嘉田で採取した藻体から放出された配偶子数

ことで、効率的に配偶子が得られる可能性がある。一方、北中城村では、調査期間中最も配偶子放出数が多かった時期が小潮であった（図 7）。しかし、調査回数が少ないため、今後も引き続き調査を進めていく。また、これらの結果より、ヒトエグサは地域によって配偶子の放出ピークが異なる可能性があることが示唆された。

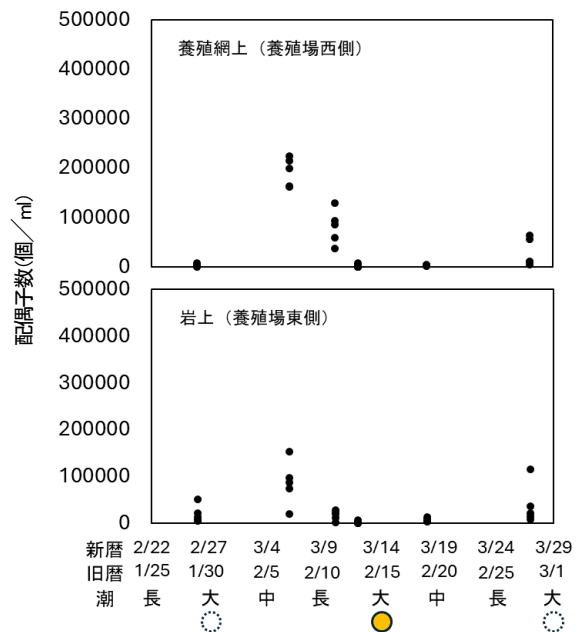


図7 北中城村美崎で採取した藻体から放出された配偶子数

文献

Schneider, C. A., Rasband, W. S. and Eliceiri, K. W. 2012: NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* 9: 671—675