

培養ヒトエグサからの人工採苗における高温期間の必要性について

岩井憲司*1・上原匡人*2

Attempt of artificial seed collection using culture of *Monostroma* species: Importance of high-temperature treatment

Kenji IWAI*1, Masato UEHARA*2

県内養殖現場から望まれているヒトエグサの人工採苗について、採取した遊走子から培養したヒトエグサを用いた試験を行った。遊走子放出のため培養したヒトエグサに夏期の高温期間を経過させる必要性について検証した結果、遊走子放出前に高温期間を経過させた区が、非高温期間区よりも確認できた幼芽の数が有意に多かった。このことは、培養したヒトエグサから人工採苗を行う際には、高温処理が必要であることを示唆している。

ヒトエグサ *Monostroma* sp.は、沖縄県の重要な海藻養殖対象種であり、その生産量は近年 100 トン前後で推移している。しかし、養殖に用いる種（遊走子）を全て天然採苗に頼っているため、自然環境に左右され、種を安定的に採ることが困難な場合がある。そのため、時期や場所に寄らず安定的な採苗が可能となる技術開発が、県内養殖現場から望まれている。

本土ではヒトエグサの人工採苗が行われているケースがある。その手法として、春期に確保した接合子を管理し、越冬させた後に遊走子を放出させて採苗する方法が取られている。この場合、越冬中に繁茂する珪藻の対策等、その管理が煩雑になるため、様々な工夫が取られているようである（大野ら、2004）。近年では、従来の採苗法に比べて管理がより容易な方法が開発されつつある（長山・鮫島、2013）。

県内でも過去に、接合子を用いた採苗が試験的に実施され、通常の実産量と遜色ない程度の収穫を行った実績がある（諸見里、1993, 1994）。問題点として、繁茂する雑藻の管理に多くの労力を費やす必要が生じる点、越冬させた後の遊走子の放出が不安定だった点が挙げられている。遊走子の放出のためには、①夏期に高温期間を設けること、②放出させる刺激として暗処理と低温時期を設けること、が必要であると報告されている。

その後、ヒトエグサの単為発生体（接合を行わない個体）を用いた養殖試験が試みられ、単為発生体の培養、種付けの試験が行われた（山田・須藤、2008, 2009）。単為発生体はフラスコ内で培養が可能であることから、煩雑な雑藻の管理を行うことなく人工採苗を実施できる可能性がある。種付けの試験については、オキナワモズク *Cladosiphon okamuranus* と同様の採苗方法では養殖網に種を付着させることが出来なかったと報告されている。この採苗方法では、夏期の高温期間と遊走子を放出させる刺激を設けて

いないので、十分に種が放出されていなかった可能性が否めない。

そこで、今回、培養したヒトエグサから採苗が可能であるか検証するため、遊走子の放出に影響を与える培養環境、特に高温期間の設置の有無について比較試験を行った。

なお、沖縄県で養殖されているヒトエグサは、ヒロハノヒトエグサ *Monostroma latissimum*、ヒトエグサ *Monostroma nitidum*、若しくは 2 種の自然交配種である可能性がある（Felix ほか、2015）。本報では、ヒトエグサ *Monostroma* sp.として取り扱った。

材料及び方法

試験には、2014 年 3～4 月に名護市屋我地にて採集したヒトエグサより配偶子を放出させ、遊走子を採用した。採取した遊走子は寒天培地に展開して培養及び分離を数回行い、雑物のないコロニーを仕立てた。このコロニーを培養元として液体培地（KW21 を 0.5ml/L の濃度で添加した滅菌海水）で通気培養を行い増殖させつつ、継代して培養を行った。ここまでの工程は、本部町の水産海洋技術センター普及班本部駐在で行なった。

2016 年 5 月 13 日に、培養中のヒトエグサを糸満市の水産海洋技術センターに移し、水温 23℃、蛍光灯（NEC 社製 ライフテック HGX 3 波長形昼光色 FHF32EX-D-HX）の点灯による照度 700～800 lux（12L, 12D）の環境下で培養を継続した（図 1）。同年 8 月 19 日に、培養したヒトエグサを 1000ml 三角フラスコ 8 個に同量になるよう分注し、液体培地で 1000ml になるよう調整した。夏期の高温期間が採苗に与える影響を比較するため、人工気象器にて 28℃（高温区）と 23℃（低温区）を設け、各区 4 個のフラスコを設置して上記と同様の環境で培養を開始した。培養を開始して 40 日後には、採苗に備え両区とも暗処理（24D）、23℃の環境条件とし、この条件で 1 週間培養し

*1E-mail: iwaikenj@pref.okinawa.lg.jp , 本所

*2水産海洋技術センター普及班本部駐在,



図1 ヒトエグサの培養状況

た。

1週間後、採苗を行うため、上記と同じ蛍光灯による光の照射と水温上昇(26℃)を行い、遊走子の放出を促した。遊走放出の確認のため、各フラスコに養殖網(第一製網社製:海苔養殖用網 ビニロン製)のロープ片(9cm)を5

本投入した。刺激開始から1時間観察を続けた。

ロープ片は、液体培地を入れた1000mlフラスコを別に用意して培養を継続した。培養条件は、ヒトエグサの培養と同様で、1週間に1回液体培地を交換した。約2カ月間培養した後、ロープ片の片面に成長した幼芽を実体顕微鏡下で撮影した後、幼芽の数を計数して比較した。

結果及び考察

ヒロハノヒトエグサの生活史は、接合子から成長する藻体の他、配偶子のまま単為発生を行い葉状体に成長する単相のサイクルが存在する(堀ら, 1994)。今回、培養に用いたヒトエグサは、数枚のヒトエグサから遊走子を放出させた為、採取した遊走子は接合子の可能性が高いが、単相の遊走子(配偶子)が存在していたことも否定できない。ヒトエグサの培養液中には、遊走子、孢子嚢、幼芽、幼藻体が混在した状態で存在していた。山田・須藤(2009)が報告しているように、藻体の先端周囲には孢子嚢が観察された。ここから遊走子が放出され藻体へ成長することで増殖を繰り返していると考えられる。これら培養中の遊走子が、どの程度の割合で、接合や単為発生を行っているかは不明である。

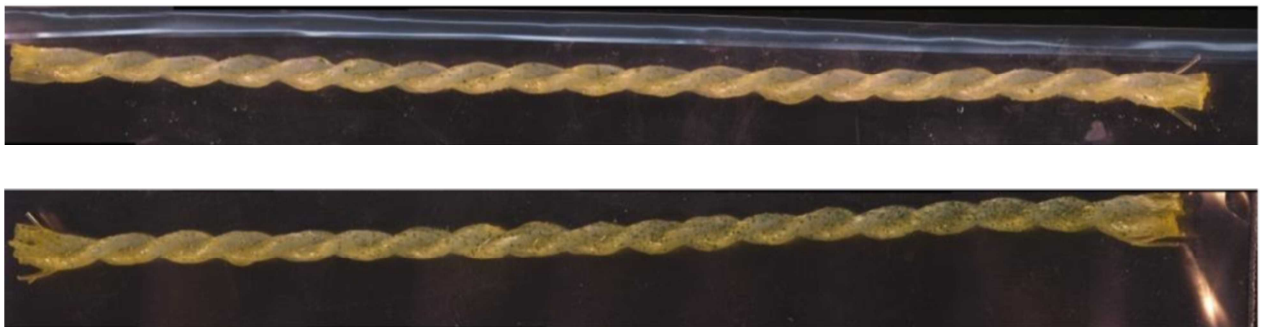


図2 培養したロープ片(上:低温区 下:高温区)

今回の試験では、遊走子放出のため培養したヒトエグサに夏期の高温期間を経過させる必要性について検証した。高温区と低温区で培養を40日間継続した後、刺激を与えて遊走子の放出を促した結果、目視による観察では両区とも変化が見られなかった。しかし、刺激を与えた溶液を光学顕微鏡下で検鏡すると、僅かであるが高温区において遊走子が観察できた。予想していたよりも遊走子の放出量が少ないと判断したため、翌日も同様の刺激を与え、翌々日には日光のあたる廊下にフラスコを静置してより強い光の刺激を与えることとした。しかしながら、目視による観察では両区とも変化は見られなかった。遊走子放出時に投入したロープ片は、培養約2カ月間後には幼芽が成長し、目視でも明瞭な差が確認できるようになった(図2)。計数したロープ片1cmあたりの幼芽の数は、高温区で27.7個体/ロープ片1cm、低温区で7.2個体/ロープ片1cmとなり(図3)、高温区が有意に多かった(Mann-Whitney U-test

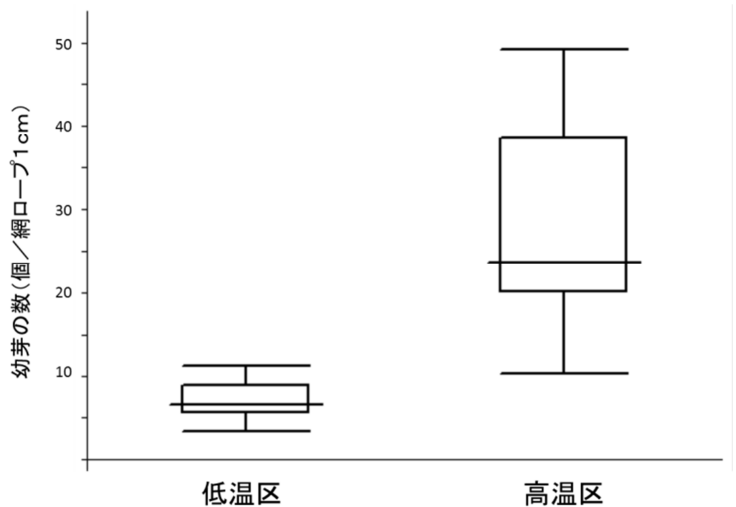


図3 ロープ片1cmあたりの幼芽の数(Mann-WhitneyのU検定:P<0.01)

$P<0.01$) .

喜田(1989)は、ヒロハノヒトエグサの接合子と接合させなかった配偶子を着生させて4カ月間培養した。成長した孢子嚢のサイズは配偶子の方が少し小さいものの、どちらの孢子嚢からも多数の遊走子を放出させた。この時期は5月から9月にあたり、室温の変化は $18^{\circ}\text{C}\sim 28^{\circ}\text{C}$ の範囲であった。野呂・根本(1991)は、ヒロハノヒトエグサの接合子と配偶子を着生させて温度 20°C で培養したところ、配偶子も接合子と比べて遜色なく、4カ月後には $60\sim 70\mu\text{m}$ に成長したことを報告している。接合子は、 20°C で培養しても孢子嚢を形成し遊走子が放出される一方、単為発生体の内部に遊走子が形成されていることは観察出来なかった。

今回の実験の結果、培養中に高温期間を設けたヒトエグサの方が期間を設けないものと比べて、採苗に適した状態になることが示唆された。採苗時に遊走子の放出状況を観察によって視覚的に確認できなかったが、上述した報告から考えると、高温区では低温区と比べて形成される遊走子が比較的多いため、遊走子の放出量が多くなるのではないかと推察される。培養したヒトエグサから人工採苗を行う際には、高温期間を設けることが重要と考えられる。

参考文献

大野正夫 編, 2004: 有用海藻誌, 内田老鶴圃, 東京, 9-12.
喜田和四郎, 1989: ヒロハノヒトエグサ配偶子の単為発

生と生活環. 水産増殖, 37(2), 83-86.

Felix B., Satoshi K. and Kazuo O., 2015: Phylogeographic assessment of panmictic *Monostroma* species from Kuroshio Coast, Japan, reveals sympatric speciation, *Journal of Applied Phycology*, 27(4), 1725-1735

堀 輝三 編, 1994: 藻類の生活史集成 第1巻 緑色藻類, 内田老鶴圃, 東京, 172-173.

長山公紀, 鮫島 守, 2013: ヒトエグサ人工採苗技術の確立に向けて. 熊本県水産研究センターニュース ゆうすい 第24号, 6-7.

野呂忠秀, 根本隆夫, 1991: 鹿児島産養殖ヒロハノヒトエグサ(緑藻)の生活史. 水産増殖, 39(4), 423-427.

諸見里 聡, 1993: ヒトエグサ人工採苗試験Ⅰ. 平成3年度沖縄県水産業改良普及事業実績報告書, 1-4.

諸見里 聡, 1994: ヒトエグサ人工採苗試験Ⅱ. 平成4年度沖縄県水産業改良普及事業実績報告書, 5-10.

山田真之, 須藤裕介 2008: ヒトエグサ中性孢子(仮称)の分離・培養・種付け試験(ヒトエグサ中性孢子(仮称)を用いた養殖試験). 平成19年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書, 69, 54-55.

山田真之, 須藤裕介 2009: ヒトエグサ単為発生体を用いた培養・種付け試験(ヒトエグサ中性孢子を用いた養殖試験). 平成20年度沖縄県水産海洋研究センター事業報告書, 70, 56-57.