

ヒジキ種苗生産における冷蔵保存幼胚の有効性

相川英明・神山公男・木下淳司

Effectiveness of refrigerated storage embryos of *Sargassum fusiforme* in seed productionHideaki AIKAWA^{*a}, Kimio KAMIYAMA^{*}, and Junji KINOSHITA^{*b}

緒 書

神奈川県水産技術センター(以下、「当センター」)では磯焼け対策として、藻場造成に用いる早熟性カジメ等の海藻の種苗生産を行う中¹⁾で、2023年からホンダワラ類のヒジキの種苗生産に着手している²⁾。

ホンダワラ類の種苗生産にあたり、幼胚の確保は成熟期に母藻から放出されるものを採取することによって、ホンダワラ類が幼胚を多量に持っている期間が短いことから³⁾、これを随時、大量に確保することが困難であり⁴⁾、安定した種苗生産は難しい現状にある⁵⁾。ホンダワラ類の一種であるアカモクでは幼胚を冷蔵保存して種苗生産を行う技術が開発されている⁶⁾。ヒジキについても実験規模で同手法が試みられ、幼胚の冷蔵保存法の可能性⁷⁾が述べられているが、11月(150日後程度)までの冷蔵保存で幼胚の発芽率が低下する⁸⁾ため、幼胚の冷蔵保存法は実用化に至っていない⁹⁾。

ヒジキの種苗生産は母藻からの幼胚を採取後、これらをポリエステル製の織テープ等の基質へ散布して静置培養を開始する。そして、ヒジキ幼藻体を基質に付着させた状態で培養を継続し、これらを海面に展開することが行われている^{10~11)}。しかし、この静置培養時に基質からヒジキの大量脱落がみられ、大幅に減耗してしまうのが弱点となっている^{12~13)}。この対応策として、当センターでは静置培養時に脱落したヒジキの幼藻体を回収し、通気により浮遊状態での培養¹⁴⁾(以下、浮遊培養とする)を試みており、この培養法による量産化を目指している。

しかし、夏季なると静置培養、浮遊培養ともアオサ

類等の雑海藻の繁茂により、ヒジキが枯死することがみられた^{2, 11, 15)}。その対応策として、他県では雑海藻の除去にメジナ類を活用した事例が報告されている¹⁶⁾。しかし、毎年適期にメジナ類を安定的に入手するのは困難と思われる。

雑海藻の除去として、ピンセット等で取り除く方法や、海水で洗い流す方法が主に用いられているが^{10~11)}、その作業には大きな労力を要する¹⁶⁾。このため水道水やクエン酸、次亜塩素酸溶液の浸漬処理による雑海藻の除去が試みられている。しかし、ヒジキ自体が枯死してしまうような過剰な条件でも雑海藻の生存が確認されており、これら浸漬処理による除去は効果がみられないとされている¹⁷⁾。

主な雑海藻であるアオサ類は秋期から冬期にかけて衰退するが¹⁰⁾、ヒジキ幼藻体の生育適温は15-20°Cでホンダワラ類の中では低温型に属する¹⁸⁾。そこで、本研究では雑海藻によるヒジキ種苗の減耗対策として、幼胚を冷蔵保存することで雑海藻の生残を抑制する手法を検討した。さらに、水温の低下した冬季に、これらから得られた幼藻体に次亜塩素酸で浸漬処理し、雑海藻をさらに抑制してヒジキ種苗の育成を促す手法の有効性について検討したので報告する。

材料および方法

ヒジキ母藻からの幼胚の採取と幼胚液の作成

2023年7月4日に、神奈川県三浦市諸磯地先において、生殖器床表面に幼胚が付着した母藻を採集し、クーラーボックスに収容して当センターまで持ち帰った。当センターの屋外水槽に設置したトレーに母藻を収容

し、砂ろ過海水をかけ流した。7月5日にトレー底面に貯まった幼胚を回収し、観賞魚用のネット(目合い1mm程度)およびナイロンメッシュ(目合い400 μ m)を用いてヒジキの藻体片および雑海藻を除去した。その後、砂ろ過海水および滅菌海水(121 $^{\circ}$ C、30分間)を用いて3回ずつ洗浄したものを幼胚液(密度1万個/L)とした。

抗生物質を添加した際の冷蔵保存期間による発芽率の変化

抗生物質の効果を明らかにするため、対照区の保存液は抗生物質を添加せずに滅菌海水のみで調整した。抗生物質添加区は細菌の増殖を抑制するため、滅菌海水2Lに培地添加用の抗生物質(ペニシリン・スプレプトマイシン溶液、シグマアルドリッチ)を20mL添加して調整した²⁾。対照区、抗生物質添加区とも密度1万個/Lとなるようにそれぞれの保存液2Lに幼胚2万個を入れ、ポリプロピレン製の容器(ハイパック角型S-31、エンテック)に收容し、アルミ箔で覆って遮光し、薬用保冷庫において4 $^{\circ}$ Cで保存した²⁾。7月5日の冷蔵保存開始から31, 63, 77, 118, 169, 245日後にそれぞれ幼胚の一部を取り出し、直径9cmのシャーレおよびプラスチックトレー(サンバット3号、サンコー)に收容して滅菌海水のみで培養した。光条件はLED灯を用いて、照度8,000LUX、明暗周期12hL:12hDとし、20 $^{\circ}$ Cのインキュベーター内で7~8日間静置培養して約100個体について発芽率を算出し、その効果を評価した。

次亜塩素酸溶液による浸漬処理

冷蔵保存77日後の幼胚についてインキュベーター内での静置培養を継続した。幼藻体の全長が約2mmとなった時点で、次亜塩素酸処理区と同処理を行わない対照区に3,000個体ずつに分け、容量3Lのビーカーあるいは50Lのパンライト水槽に、カートリッジフィルター(5 μ mと0.5 μ mの2連)でろ過した紫外線殺菌海水と共に收容し、2023年10月31日から150日後まで止水状態の通気による浮遊培養を当センター屋内施設において実施した。育成水温は施設室温とし、光条件はLED灯を用いて、照度8,000LUX、明暗周期12hL:12hDとした。

次亜塩素酸処理区は浮遊培養時にヒジキに付着した雑海藻(アオサ類、シオミドロ類)を除去するために種苗を7~10日おきに取上げ、次亜塩素酸溶液(ツルクロン、東亜合成)を希釈して有効塩素濃度24ppmに調整した紫外線殺菌海水で浸漬処理を行った。顕微鏡で雑海藻の輪郭が白化して枯死する状況を確認しながら13~15分間処理を行い、その後新しい紫外線殺菌海水に交換し

た。

また、浮遊培養期間において、ヒジキ幼藻体の最大葉長を21~78日間隔で経時的に測定するとともに、培養150日後の生残率(生残した幼藻体数/幼胚数 \times 100)を算出し、対照区の生残率および既報の結果^{10, 17, 19)}と比較した。

浮遊培養時の水温状況

浮遊培養期間の水温は、午前9時に測定し、既報の当センター地先三崎瀬戸の連続観測結果の平年水温(2013~2022年の10年間の平均)¹⁾と比較した。

結果および考察

冷蔵保存での抗生物質の含有効果

ヒジキ母藻を採取した翌日の、2023年7月5日に採苗した幼胚(冷蔵保存を行わない)の発芽率が最も高く67.2%であった。対照区では幼胚は白化が進み、その発芽率は63日後以降、0%となった。抗生物質添加区では幼胚は褐色の状態が維持された。245日後の発芽率は19.4%となり(図1)、生残した幼胚が確認されたことから、抗生物質を添加すれば245日間は冷蔵保存が可能であることが明らかとなった。

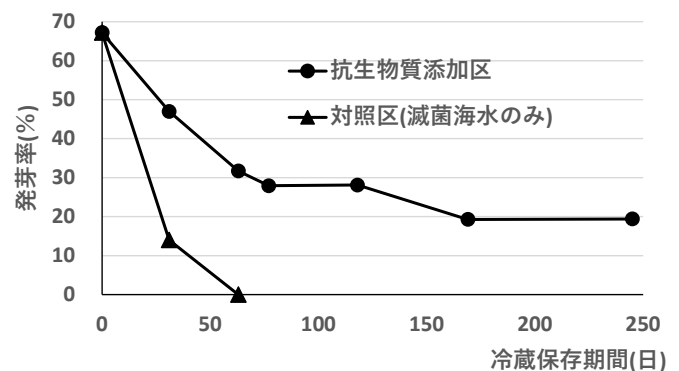


図1 冷蔵保存したヒジキ幼胚の発芽率の推移

抗生物質を添加せずにヒジキおよびアカモクの幼胚を冷蔵保存した場合は、腐敗により発芽率が0%となった報告がある^{9, 20)}。筆者らはアカモクにおいて、本研究で供試した抗生物質を幼胚液へ添加し細菌の増殖を抑えることで、添加しないものに比べ発芽率が63%向上することを確認している²⁾。

本研究における抗生物質添加区でも、細菌の増殖によると思われる幼胚液の白濁やフロックの生成が起こらず、生残個体を維持できたことから、抗生物質の添加が有効であると考えられた。

これまでの研究では、抗生物質を添加せずにヒジキの幼胚を冷蔵保存すると14日後で発芽率は0%となる

9)、他方、11月（150日後程度）までの保存期間で30.7～34.9%⁸⁾となる報告がある。本研究では118日後の保存では28.1%、169日後では19.3%となり、後者に比べやや低い結果となった。

本研究ではアカモクの幼胚の冷蔵保存に準じた濃度で抗生物質を添加したが、ヒジキ母藻採取の翌日に採苗した幼胚の発芽率は67.2%で、先行研究の平均53.5%（10～93%）¹⁰⁾と同程度であった。このことから、母藻から得られた幼胚の質ではなく、幼胚液へ添加した抗生物質の濃度が影響している可能性がある。今後、ヒジキの幼胚液への適切な添加量を検討すれば、発芽率の向上が期待される。

次亜塩素酸溶液の浸漬処理による雑海藻の除去効果

インキュベーター内での静置培養を継続した冷蔵保存77日後の幼胚は、41日後の10月31日で最大葉長2mmに達した。

次亜塩素酸浸漬処理していない対照区の幼藻体は雑海藻の付着が著しく、浮遊培養78日後に生残率は0%となり試験を終了した。一方、次亜塩素酸処理区は浮遊培養150日後に7.8%であった。既報の結果^{10, 17, 19)}との比較では屋内水槽と屋外あるいは海面育苗など培養条件の違いはあるが、次亜塩素酸処理することで、海面育苗¹⁰⁾と同等かそれを上回る生残率が得られた（表1）。

表1 ヒジキを幼胚から培養した際の生残率の比較

実施機関	幼胚数	次亜塩素酸処理	育成方法	培養日数	幼胚からの生残率(%)	備考
神奈川県(次亜塩素酸処理区)	3,000 ^{*4}	有	屋内水槽	150	7.8	
神奈川県(対照区)	3,000 ^{*4}	無	屋内水槽	78	0	雑海藻の付着が著しく、生残個体数が減少し、試験を終了
愛媛県 ^{*1}	140,000～1150,000	無	海面育苗	202～239	0.1～5.9	
三重大学 ^{*2}	2,800,000	無	屋外水槽	161	—	生残個体数が大きく減少し、試験を終了
香川県 ^{*3}	113,000	無	海面育苗	283	0.03	

* 1: 引用文献 10)愛媛県農林水産研究所(2015)より抜粋

* 2: 引用文献 17)吉見和輝(2014)より抜粋

* 3: 引用文献 19)本田恵二(2023)より抜粋

* 4: 冷蔵保存した幼胚を用いた

これまで次亜塩素酸による雑海藻の除去の試みはあるが、次亜塩素酸240～300ppmの3分間の1回の浸漬処理では雑海藻は除去できずにヒジキが枯死しており¹⁷⁾、その実用化には至っていない。本研究では次亜塩素酸の浸漬処理を雑海藻の白化状況に応じて処理時間を調節し、低濃度（24ppm）の次亜塩素酸の浸漬処理を繰り返した。このことでヒジキへの雑海藻の付着が軽微で、生残した幼藻体を得られ、150日後の3月29日に45mmとなった（図2、図3-1、2）。

浮遊培養時の水温状況

浮遊培養時の最高水温は11月7日の21.4℃で、最低水温は2月6日の7.6℃で、日によって変動はあるものの、平均水温は11.8℃であった（図4）。当センター地先三崎瀬戸の連続観測結果の平年水温（過去10年の平均）は1～3月に最低水温の14℃が、7～8月に最高水温25℃が観測されている¹⁾。この最低水温の14℃に比べ、本研究の水槽の平均水温11.8℃は低かったことから、本研究では冬季の低水温で培養したことにより雑海藻の繁茂をある程度抑制できたものと推察された。

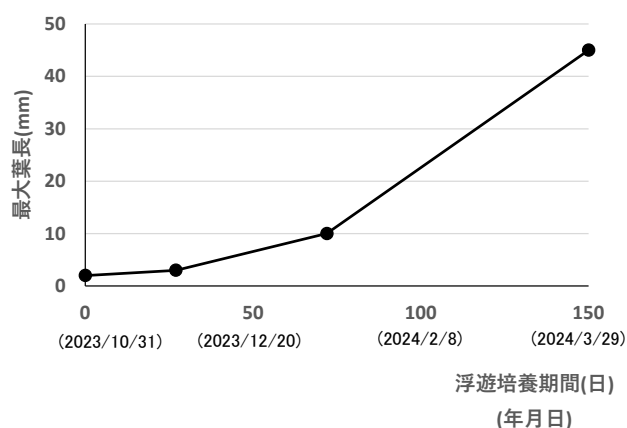


図2 次亜塩素酸処理区のヒジキの最大葉長の推移

まとめ

本研究では発芽率が低下するものの、ヒジキの幼胚を245日間冷蔵保存できることが明らかとなった。

冷蔵保存した幼胚を用いて冬季の低水温下で幼藻体の育成を行い、低濃度の次亜塩素酸の浸漬処理を繰り返すことで、雑海藻の繁茂を防げることを確認した。今後、冷蔵保存の際の適正な抗生物質の添加量及び雑海藻除去における次亜塩素酸濃度とヒジキの浸漬時間の関係を明らかにすれば、種苗を随時大量に確保できヒジキの種苗生産の効率化が進むものと期待される。

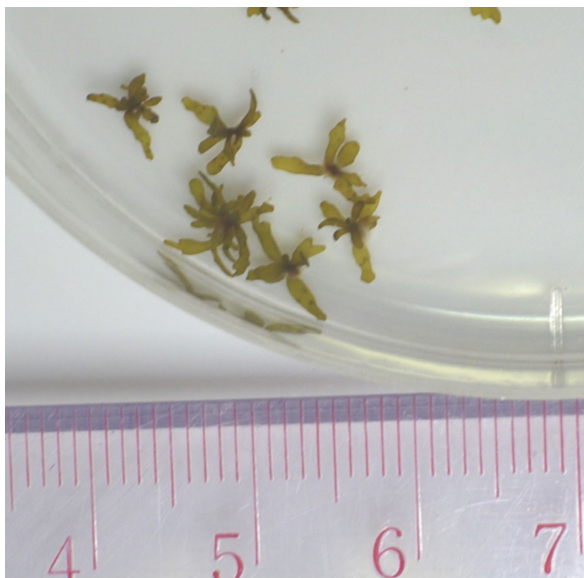


図3-1 次亜塩素酸処理区のヒジキの幼藻体
(浮遊培養 27 日後、2023/11/27)

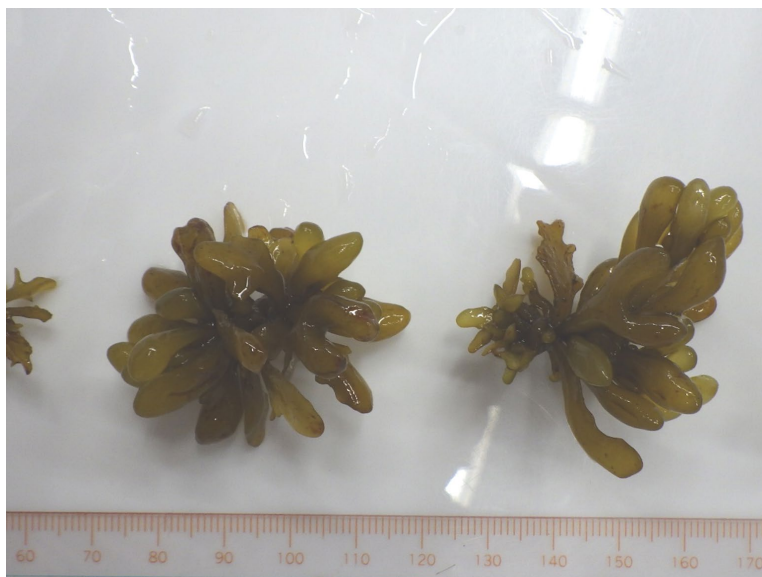


図3-2 次亜塩素酸処理区のヒジキの幼藻体
(浮遊培養 150 日後、2024/3/29)

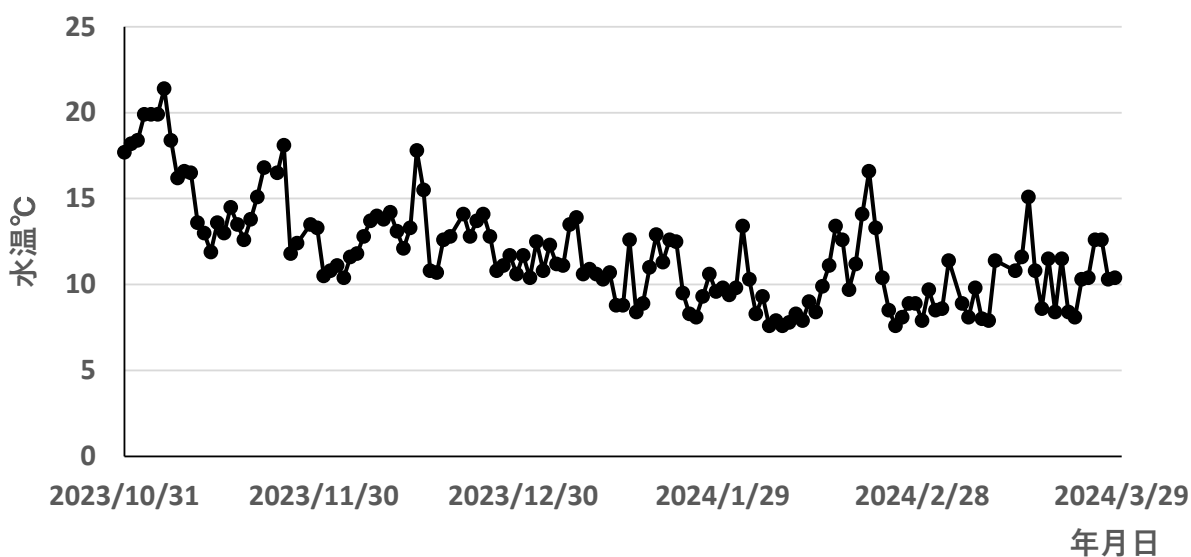


図4 ヒジキの浮遊培養期間の水温の推移

謝 辞

本研究を実施するにあたり、ヒジキ母藻の採取に御協力いただいた、みうら漁業協同組合諸磯支所の本間功一様に厚く御礼申し上げます。ヒジキの浮遊培養では当センター資源管理課の渡辺芳幸様、小師佳子様にご大変お世話になりました。ここに深く御礼申し上げます。

引用文献

- 1) 木下淳司・蓑宮 敦・相川英明・春山出穂 (2024) : 早熟性カジメ由来人工種苗の1年目成熟率, 水産工学, 60, 125-130.
- 2) 神奈川県水産技術センター (2024) : 令和5年度神奈川県水産技術センター業務報告, 28.
- 3) 京都府立海洋センター (2009) : ホンダワラ類の増殖, 京都府立海洋センター季報, 96, 1-13.
- 4) 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, 日本水産学会誌,

66, 739-740.

5) 田中俊充・木村創 (2005) : ホンダワラ類の組織培養による増養殖用種苗生産技術開発, 和歌山県農林水産総合技術センター水産試験場増養殖研究所報告, **36**, 65-71 .

6) 京都府立海洋センター (2009) : 海藻アカモクの養殖技術, 京都府立海洋センター季報, **109**, 7-16.

7) 森田晃央・小黒敏行・斎藤洋一・井上美佐・松田浩一・神谷直明・倉島彰・前川行幸 (2014) : ヒジキ発芽体の生長および仮根伸長におよぼす水温と光の影響, 藻類, **62**, 88-92.

8) 畔地和久・古川あさひ・岩野英樹・吉岡宗佑・西陽平・中田久 (2002) : 人工種苗ロープの開発によるヒジキ養殖技術の確立, 令和元年度大分県農林水産研究指導センター水産研究部事業報告, 208.

9) 鹿児島県水産技術開発センター (2012) : ヒジキ種苗量産試験, 平成 24 年度鹿児島県水産技術開発センター事業報告書, 124-125.

10) 愛媛県農林水産研究所 (2015) : ヒジキ養殖マニュアル, 1-45.

11) 和歌山県水産試験場 (2018) : ヒジキ種苗生産マニュアル, 1-11.

12) 鹿児島県水産技術開発センター (2006) : ヒジキ養殖手法の確立, 鹿児島農林水産事務所平成 18 年度水産業改良普及事業現地適応化試験報告書, 1-2.

13) 佐藤寛之 (2013) : ヒジキの人工種苗を用いた養殖技術開発, 三重大学大学院修士論文, 1-33.

14) 京都府 (2004) : 褐藻類幼体の剥離攪拌法による培養養成法, 特開 2004-187574.

15) 本田恵二・明石英幹・牧野弘靖 (2021) : ヒジキの人工種苗生産試験, 令和 3 年度香川県水産試験場事業報告, 32.

16) 野田 勉, 門田 立・島岡啓一郎・藤浪祐一郎 (2022) : メジナ幼魚の摂餌を利用したヒジキ種苗生産における基質の雑海藻除去, 水産増殖, **70**, 113-117.

17) 吉見和輝 (2014) : ヒジキの人工種苗を用いた養殖技術開発および生長, 成熟, 初期発生と光合成産物量の変化, 三重大学大学院修士論文, 1-47.

18) 森田晃央・小黒敏行・斎藤洋一・井上美佐・松田浩一・神谷直明・倉島彰・前川行幸 (2014) : ヒジキ幼体の生長と形態形成におよぼす水温の影響, 藻類, **62**, 93-98.

19) 本田恵二 (2023) : ヒジキの人工種苗生産試験, 香川県水産試験場研究報告, **22**, 17-20.

20) 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, 京都府農林水産技術センター海洋センター研究報告, **38**, 19-20.