

フトモズクの養殖に関する研究〔I〕

— 温度による種の熟度及び中性複子嚢遊走子の放出の影響 —

佐々木和之

(研究部)

Effect of Seeds Maturity on *Tinocladia crassa* (Suringar), and Release of Pluriocular Zoosporangium by Cooling Temperature

Kazuyuki SASAKI

(Research Department)

福岡県筑前海沿岸では、静穏域が少なく特に漁船漁業は冬場の時化のため操業が制限される。一方、ノリ養殖は漁場の消失等で衰退の一途をたどり、ワカメ養殖も不作の年が出現するなど生産が安定しない傾向にある。そのため、地元漁業者から漁閑期対策として、外海でも可能な新しい品種の養殖技術の開発が切望されていた。これらの要望に応えるため、全国でもほとんど例の無い、フトモズク *Tinocladia crassa* (Suringar) の養殖に取り組んだ。フトモズクの生活史には、外見上全く区別のつかないn世代の配偶体と2n世代の匍匐糸状体とがあり、それぞれが配偶子と遊走子を形成する。2nの種であれば直接糸に付着させて採苗できるが、n世代であれば接合するまでの時間やタイミングが必要であり、種の種類によって採苗方法が異なる。このため、現在培養中の細胞の染色体数を調べ、世代の確定をする必要が生じた。また、本年度は養殖技術のうち、主に採苗に必要な種の形成並びに中性複子嚢遊走子の放出に関する研究に取り組んだ。

材料及び方法

1 染色体の観察

細胞は、1998年5月に本県宗像郡玄海町鐘崎地先で採取したフトモズクの葉体に形成された単子嚢を、マイクロピペットを用いて無菌的に採取し、尾形¹⁾のSWM-III培地から表1に示すようにビタミン等を除いた改変培地に移して培養したものである。培養条件は13時間明：11時間暗周期、照度2,000Lx、温度20℃で無通気静置培養である。単子嚢から発生した細胞を17時、20時、23時の3回に分けて採取し、常法²⁾に基づいてアルコールで固定しパラフィンに包埋した。

切片は厚さ4,6,8 μ mの3種類を作成し、ハイデンハイン氏鉄明礬染色法²⁾で染色し、顕微鏡を用いて1,000倍で観察して染色体を計数した。

表1 SWM-III改変培地の組成

NaNO ₃	1.0M	2ml
Na ₂ HPO ₄	50mM	2ml
Na ₂ EDTA	15mM	2ml
FeCl ₃	1.0mM	2ml
PI-metal [*]		2ml
Tris		500mg
Sea water		1.0L
pH 7.5		
* PI-metal		
H ₃ BO ₃		12.37g
MnCl ₃		1.4g
ZnCl ₃		0.11g
CoCl ₂ · 6H ₂ O		4.8mg
CuCl ₂ · 2H ₂ O		0.03mg
H ₂ O		2.0L

2 熟度基準の作成

温度処理した匍匐糸状体の細胞の形態変化を観察し、スケッチ並びに写真撮影により記録した。

3 中性複子嚢遊走子放出及び発芽体形成に及ぼす温度の影響

供試した試料は20℃と25℃で2ヶ月以上馴致培養した2系列の匍匐糸状体である。

温度条件として25℃、20℃、18℃及び15℃区の4区を設定し、その他の培養条件は前述と同じである。対照区としては栄養塩を除いた培地を準備し、実験区と合わせて合計16区を設定した。

匍匐糸状体は、約100 μ m×100 μ m大のものをSWM-III改変培地を満たした24穴のマルチプレートの1孔毎に接種した。放出直後の遊走子は2本の鞭毛を有し、動きが活発で正確な計数ができない。そのため、毎日匍匐糸状体を次のホールに移し替えて、プレートの底に着定した遊走子を倒立顕微鏡を用いて計数した。

結 果

1 染色体の観察

17時に固定し、厚さ $6\mu\text{m}$ の切片の細胞の染色体は、図1に示す通り約24本観察され、単孢子から発生したものは減数分裂を起こさない $2n$ の単子嚢遊走子から発生した匍匐糸状体と判明した。なお、20及び23時に固定した細胞は分裂状態が観察され、染色体の計数には不適であった。また、切片の厚さは $6\mu\text{m}$ が最も観察し易く、厚すぎても薄すぎても確認し難かった。

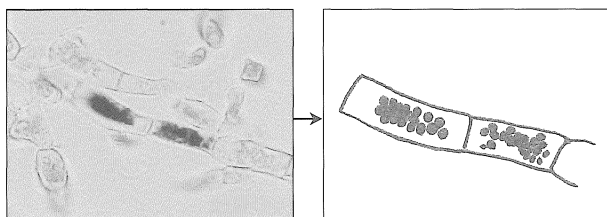


図1 染色体の観察 ($\times 1,000$ 倍)
アルコールで固定17時、切片の厚さ $6\mu\text{m}$

2 熟度

温度処理によって匍匐糸状体から中性複子嚢を形成し、中性複子嚢遊走子を放出するまでを図2に示す通り5つのステージ（前期、後期）に分類し、採苗時の熟度の基準とした。

I 段階前期：単子嚢遊走子が基質に付着する。

後期：盛んに成長して細長い匍匐糸状体となる。

II 段階前期：匍匐糸状体は次第に丸みを帯びてくる。

後期：分離して、次第に球形となる。

III 段階前期：球形に発達した細胞は、黄褐色から黒褐色に変色する。

後期：細胞は次第に塊となる。

IV 段階前期：細胞塊から中性複子嚢が形成され、次第に棘々しくなる。

後期：中性複子嚢が直立し始める。

V 段階前期：2~4細胞に分裂した中性複子嚢から、中性複子嚢遊走子が形成される。

後期：中性複子嚢遊走子が放出される。

3 温度の影響

(1)25℃馴致培養系

25℃で馴致培養した匍匐糸状体の各温度別の遊走子放出の経日変化を図3に示した。

遊走子は総ての区で認められ、放出開始日の早い順に20℃区では11日目、18℃区で12日目、25℃及び15℃区で16日目であった。

遊走子の総数については、各区の接種時の匍匐糸状体の細胞数が必ずしも同じでないため厳密には比較できな

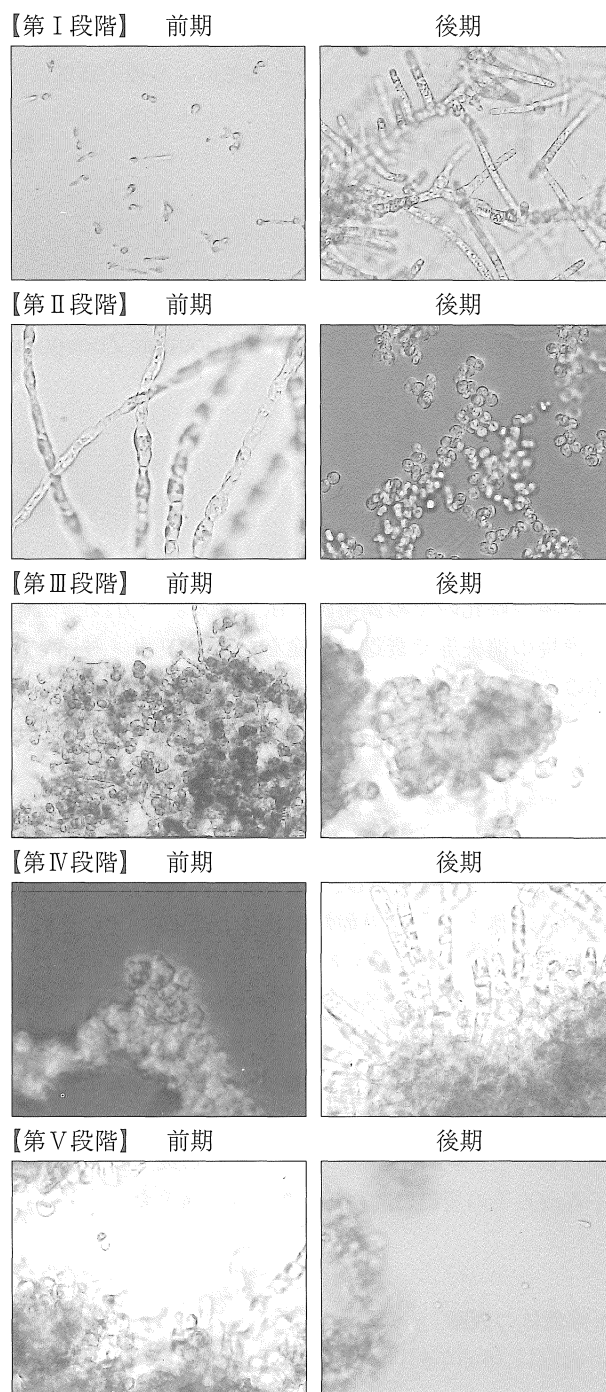


図2 中性複子嚢遊走子放出に至るまでの細胞の形態変化

いが、20℃区で5,891個、18℃区で3,601個、15℃区で2,050個、25℃区で1,397個の順であった。

次に、実験期間中の遊走子の放出パターンを比較した。温度変化の無い25℃区では遊走子が認められた以降の9日間は1~28個と少なく、ピークは接種後24~26日後に現れた。実験終了時まで盛んに中性複子嚢が形成され、遊走子の放出が確認された。なお、実験終了時においては

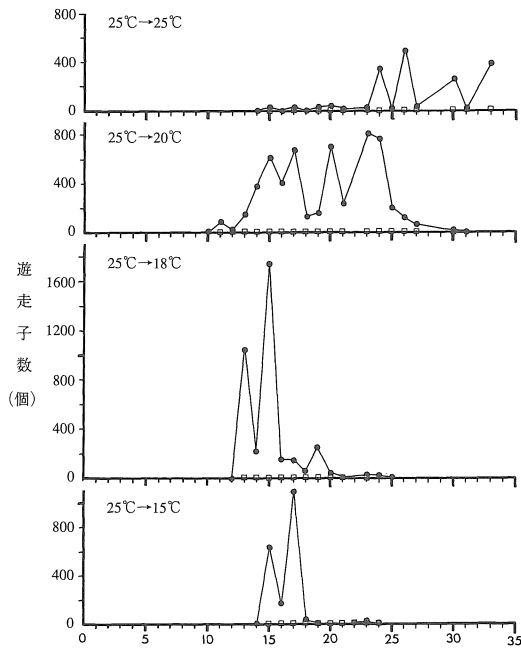


図3 温度処理による中性複子嚢遊走子の放出数の変化 (25℃馴至培養系)

同化糸へと発生する発芽体は全く形成されなかった。

5℃低温処理した20℃区では遊走子の放出のピークは、接種後15～24日の10日間と、長くかつ量的にも多かった。25日以降は発芽体の形成が盛んとなり、中性複子嚢はほとんど形成されず、いつまでも遊走子を形成した25℃区とは異なっていた。

7℃低温処理した18℃区では遊走子のピークは13～15日の3日間と短く、かつ、シャープでありこの期間に全体の79%の遊走子を集中して放出していることが分かる。接種後25日を過ぎると20℃区と同様に中性複子嚢の形成は衰え、遊走子は形成されなくなる。代わって発芽体の成長が盛んとなった。

10℃低温処理した15℃区では遊走子の放出は接種後15～17日にかけてのほぼ3日間で、他の実験区に比べると最も短い。25日以降は盛んに発芽体が形成され、中性複子嚢は形成されなくなった。

以上発芽体の認められた20℃区、18℃区及び15℃区では接種35日目の実験終了時には60～80 μ mまで成長し、色調は濃い褐色で細胞内物質は充実していた。

一方、栄養塩を添加していない滅菌海水のみの対照区では、全く中性複子嚢は形成されず遊走子の放出は認められなかった。なお、対照区でも発芽体は形成され、20℃区、18℃区及び15℃区では50～70 μ mまで成長したが、実験区に比べ細胞の色素は非常に薄く、全体として白黄色であった。25℃区では発芽体の数はわずかで成長もほとんど見られなかった。

(2)20℃馴致培養系

20℃で馴致培養した葡伏糸状体を用いた各温度別の遊走子放出の経日変化を図4に示した。

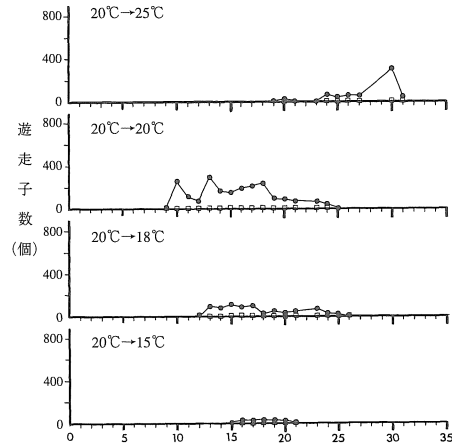


図4 温度処理による中性複子嚢遊走子の放出数の変化 (20℃馴至培養系)

いずれの区でも25℃の馴致培養系より遊走子の放出数は少なかった。放出開始日の早い順に、20℃区では接種後10日目、18℃区では13日目、15℃区では16日目、25℃区では20日目であった。

遊走子の総数は、20℃区では2,087個、18℃区では791個、25℃区では678個、15℃区では181個であった。

20℃から25℃へ5℃昇温処理した区では、接種後20～27日にかけて10～50個の遊走子が放出され、ピークは30日目の308個であった。実験終了時では細胞塊の約半分から中性複子嚢を、残りの部分からは発芽体が形成された。

温度変化の無い20℃区では接種後10日目に249個の遊走子を放出し、18日目までに継続して200個前後の遊走子が確認された。25℃で馴致した系と同様にピークが長く保たれた。25日以降は、発芽体が多数形成されるにつれて中性複子嚢は少なくなり、遊走子は放出されなくなった。

2℃低温処理した18℃区では接種後13～17日までは100個前後の遊走子が放出された。以後、26日目まではほぼ毎日50個づつ遊走子は放出され、それ以降は20℃区と同様に細胞塊は発芽体に覆われ、中性複子嚢は形成されなくなった。5℃低温処理した15℃区では遊走子の放出は15～20日までの5日間のみで、数は10～20個に過ぎなかった。

一方、栄養塩を添加しない対象区では25℃の馴致培養系と同様、総ての区で遊走子は形成されなかった。また、20℃区、18℃区及び15℃区では発芽は認められるものの、色調は悪く、特に20℃から25℃に昇温した区では発芽体の形成も遊走子の放出も見られなかった。

表2 モズク類の生産状況

(単位：トン)

年 度 (平成)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
フトモズク (福岡県筑前海)	0	8.0	0.1	0	5.4	0.1	0.4	6.5	0	0.1
オキナワモズク (全国)	9,406	10,523	10,368	10,319	13,521	9,981	7,400	7,446	12,427	7,996

考 察

今回、試験養殖に取り組んでいるフトモズクは、褐藻植物、ナガマツモ目、ナガマツモ科に属する藻類で、フトモズク属としてフトモズクが、オキナワモズク属としてオキナワモズクがある。フトモズクは北海道や沖縄を除く本州沿岸域に広く分布³⁾ と言われている。本県では筑前海岸沿岸地先の水深1~2mの転石や岩礁地帯にわずかに生息が認められている。全国のフトモズクの収穫量は統計が無いため不明であるが、本県では表2に示す通り年変動が大きく、最大は平成2年の8トン、平均で1~2トン程度である。

また、収穫量が少ないため地元だけで消費されるなど利用する地域は限られている。一方、比較的温暖な水域に生息するオキナワモズクは新村^{4, 5, 6)} によって養殖技術が確立された。現在ではほとんど大部分が沖縄県で養殖されており、同表2に示す通り年間約10,000トンの生産量に達し、全国に流通している。一方、本州の沿岸域に生息するモズク類で養殖が実用化されている種類は無い。

フトモズクは通常的生活史以外に、四井^{7, 8)} により、配偶体世代を持たず複相の胞子体世代のみで生活環を完結させる、サブサイクルを持つ口之津型の存在が明らかにされている。n世代の配偶子嚢から放出される配偶子も簡単に種糸などの基質に付着はするが、付着しても単為発生を繰り返すのみで接合して2nにならない限り胞子体へは成長しない。従って、2nの匍匐糸状体であれば、複子嚢から放出される中性複子嚢遊走子を直接、如雨露などで種糸に付着させることで採苗が可能となる。

一方、n世代の配偶体であれば配偶子が接合するまでの時間や種糸を浸漬する時間が必要となり、nまたは2n世代が採苗の可否を分けることとなる。現在、培養を行っている種は、染色体の観察の結果から2n世代の口之津型に属するもので、中性複子嚢から放出される中性複子嚢遊走子を直接種糸に付着させて採苗することが可能である。

温度処理中の細胞の変化を基に熟度の基準を作成したが、20~25℃で匍匐糸状体の継代培養を繰り返すと第I段階の細長い細胞はほとんど観察されず、大部分は第II段階の丸みを帯びた匍匐糸状体のまま分裂して増殖す

る。この原因は不明であるが培養温度が高いことが影響しているのかも知れない。

培養期間が長くなると老化した細胞が破壊され、培養液は次第に褐色となる。そのため、効率よく細胞を増やすためには1~1.5ヶ月毎に培地を交換する必要がある。

遊走子の形成と発芽体の形成は密接な関係がある。すなわち、発生のⅢ段階以降になると中性複子嚢と同化糸に発達する発芽体はほぼ同時に形成され始めるが、発芽体の占める割合が高くなるにつれて、中性複子嚢の形成は少なくなり採苗できなくなることが判明した。なお、配偶体と胞子体の発生は四井^{9, 10)} が詳細に報告しており、今回の観察からも同様な発生を確認した。

フリー糸状体を用いた採苗は、ノリ養殖やオキナワモズク養殖など実験的には行われていても実用化には至っていない。今回のフトモズク養殖の取り組みはフリー糸状体から直接採苗を行おうとするものである。人為的に中性複子嚢を形成させるためには、豊富な栄養塩が存在すると考えられている内湾の海水のみでは不十分で、さらに栄養塩類を添加する必要がある。

25℃の馴致培養系で25℃に接種したものや、20℃の馴致培養系で20℃に接種したものは温度変化はなかったが、かなりの量の遊走子が認められた。これは培地の交換による刺激が原因と判断された。また、匍匐糸状体は20℃より25℃で継代培養し、その後20℃へ低温処理を行えば、大量かつ長期的に遊走子を放出することが判明した。そのため、採苗は低温処理開始14~24日後の遊走子懸濁液を種糸に散布するか浸漬することで実施可能である。現在、この実験系を用いて採苗を実施しており、さらに、発芽条件については詳しく詰める必要がある。

要 約

- 1) 単子嚢を無菌処理することで純粋培養に成功したフトモズクを用いて、中性複子嚢遊走子の放出に関する温度の影響を調べた。
- 2) 20℃及び25℃で2ヶ月以上の長期間馴致培養した2系を用いて25, 20, 18, 15℃区の温度処理を行なった結果、総ての区で遊走子の放出が認められたが、特に25℃で馴致させた系を20℃へ低温処理を行った区が最も大量か

つ長期的に遊走子を放出することが判明した。

- 3) 温度処理を行うと一般に温度が低くなればなるほど遊走子の放出は遅れる傾向にあった。
- 4) 水温が低いほど遊走子放出のピークはシャープであるが、放出期間は短く数も少ない傾向にあった。
- 5) 単子嚢から発生した細胞の染色体数は約24で、減数分裂をしない2n世代の口之津型の匍匐糸状体と判明した。
- 6) 発芽から中性複子嚢遊走子を放出するまでの細胞の変化をV段階に分類し、熟度の基準を定めた。

文 献

- 1) 尾形英二:新しい海藻培養液SWM-Ⅲ,藻類,18,3,171-173 (1970)
- 2) 西林長朗,猪野俊平:海藻の細胞学的研究(Ⅱ),藻類,11, 2,31-43(1958)
- 3) 吉田忠生:新日本海藻誌,内田老鶴圃,249(1998)
- 4) 新村巖:オキナワモズクの養殖に関する研究-Ⅲ,中性複子嚢の遊走子の発生.日水誌,40(12),1213~1222(1974)
- 5) 新村巖:オキナワモズクの養殖に関する研究-V,配偶子の接合と接合子の発生.日水誌,42(1),21~28(1976)
- 6) 新村巖:新しい海藻資源,水産の研究,3,4(11),60-64(1984)
- 7) 四井敏雄:フトモズクの生活環.日水誌,44:861-867 (1978)
- 8) 四井敏雄:The life cycle of *Tinocladia crassa* (SURINGAR) KYLIN (Phaeophyta,Chordariales) without a haploid gametophyte from kuchinotu,kyushu,Japan 日水誌,30:113-118(1982)
- 9) 四井敏雄:フトモズク配偶体の成熟と接合子の形成,長崎水試研報,5,33-38(1979)
- 10) 四井敏雄:フトモズク胞子体の初期成長と中性複子嚢の形成,長崎水試研報,5,39-42(1979)