

有用海藻類のバイオテクノロジー基礎技術開発研究

玉城英信・内藤美佐子*

1. 目的

近年、農林水産分野においてはバイオテクノロジーを用いた種苗生産技術の改良や新品種の開発が行われ、様々な成果が示されている。そこで、本年度は昨年度純粋培養したイトモズクの糸状体を使用して培地別、温度別の試験を試みた結果、使用したミュッケル、ノリマックス、試験培地の中では試験培地の方が成長、糸状体の状態及び体色が良く、無通気に比較して通気した方が増加速度が早くなり、温度は23~25℃前後が良いことがわかったのでここに報告する。

2. 材料及び方法

材料は昨年度純粋培養したイトモズクの糸状体を使用した(杉山1993)。

(1) イトモズクの培地別成長試験

試験1は平成4年7月6日にミッケル培地で液体保存したイトモズクの糸状体を100ml滅菌海水に懸濁し、滅菌海水(125℃、15分)500mlの入ったフラスコに各1mlずつ植付き、ミッケル培地、試験培地を規定量添加した。20℃の恒温室と室内に各フラスコを設置し、3,000~4,000lxの人工照明下で培養を行った。試験期間中は蒸留水を使用して適宜塩分調整を行った。試験終了時の8月1日(26日後)に糸状体の状態を検鏡後、吸引ろ過器で全量ろ過し、乾燥器(80℃)内で12時間乾燥して糸状体の増加量を測定した。通気の有無による増加量の変化と培地別の増加量の変化を比較した。試験期間は平成4年7月6日から8月1日の26日間であった。

試験2は試験1で最も成績の良かった試験培地の検鏡後の糸状体を元種として使用した。試験は25℃恒温室内で行い、培地にはノリマックス(前期用)と試験培地を使用した。培養条件と測定方法は試験1と同様に行った。試験期間は平成4年8月1日から8月19日の18日間であった。

(2) イトモズクの温度別培養試験

予め寒天培地で培養したイトモズク糸状体のコロニーから大きさの等しいもの(直径約1mm)を選び出し、各2コロニーずつ500mlのフラスコ内へ入れて液体培養を行った。培地は試験培地を使用し、20℃、25℃及び30℃の恒温室内で培養を行い、温度別の増加量を比較した。培養条件と測定の方法は試験1と同様に行った。試験期間は平成4年8月17日から27日の20日間であった。また、平成4年8月7日に30lxパナライトで液体培養した糸状体を8月18日に壁面から採集し、滅菌海水に懸濁させ白金耳を用いて寒天培地上に植付きを行った。寒天培地は試験培地の栄養塩を滅菌海水に規定量溶かした後に寒天末を1%を混ぜて煮沸後、冷却し寒天がまだ固まらない状態の時にビタミンB₁₂、L-シスチンを良く混ぜて作製した。植付き後、20℃、25℃及び30℃の恒温室内の約4500lxの照度下で培養を行い、寒天培地上に発生したコロニー数を計数した。コロニーの大きさは大きなものから10個を選び出し直径と短径を測定し、その平均をコロニーの直径とした。測定後大きさの等しいコロニーを各12個体選び出し、新しい寒天培地に植付き20℃、25℃の恒温室と23℃に設定した人工気象器内で培養を行い、温度別のコロニーの成長を比較した。

* : 非常勤職員

(3) 養殖試験

平成4年11月2日～11月5日に1 t FRP水槽2面と500ℓ パンライト水槽にろ過海水を貯め、次亜塩素酸ナトリウム1,000ppmで殺菌後、チオ硫酸ナトリウムで中和した海水にモズク網30枚を入れ、予め3ℓ フラスコ内で培養したイトモズク糸状体を6ℓ / tづつ種付けを開始した。種付けから約20日経過後の11月25日に与那国島15枚、32日後の12月7日に鳩間島15枚、42日後の12月17日に竹富島10枚を送付し試験を開始した。試験は八重山支庁の瀬底水産係長を中心に試験を行い、糸満市と宮古島でも普及所の諸見里専技、宮古支庁の仲間水産係長を中心に同様な養殖試験を行った。

3. 結果及び考察

(1) イトモズクの培地別成長試験

試験に使用した培地の組成を表1、試験1の結果を表2に示した。試験終了時のミッケル培地の通気区と無通気区の乾燥重量当たりの増加量は通気区で平均6.2mg、無通気区は1.2mg以下と通気区の増殖が高かった。20℃の恒温室内と室内でのミッケル培地と試験培地の乾燥重量当たりの増加量は20℃恒温室でミッケル培地平均6.2mg、試験培地21.9mg、また室温状態ではメッケル培地平均9.0mg、試験培地13.9mgと試験培地の方がいずれも高い値を示した。

試験2の結果を表2に示した。最も増加量の高かったのは試験培地とノリマックスを混合した区であったが、その他のノリマックス区と混合区では球形単細胞の緑藻が混入し、イトモズクの糸状体は薄い褐色に変色した。試験培地とノリマックス培地では試験培地区では乾燥重量当たりの増加量は平均177.5mg、ノリマックス区113mg、混合区では平均160.5mgと試験培地区の方が良い傾向が伺われた。

これらのことからイトモズクの培養方法としては無通気よりも通気した方が乾燥重量当たり約5倍の成長を示し、試験培地の成長はミッケル培地に比べ20℃で約3.5倍、室温で約1.5倍、ノリマックス培地では25℃の条件下で約1.6倍の成長を示したことから、種の培養を行う場合は試験培地を使用した通気培養が良く、種保存を行う場合は成長の緩慢なミッケル培地を無通気培養を行った方が良いと思われた。

(2) イトモズクの温度別培養試験

温度別成長試験の結果を表4、温度別コロニー数の変化と成長を表5、温度別のコロニーの成長を表6に示した。表4の結果から試験終了時の乾燥重量当たりの増加量は20℃区で平均0.28mg、25℃区で0.28mg、30℃区では0.12mgと20℃区と25℃区では差がみられず、30℃区では増加量が低下した(表4)。寒天培地上の温度別コロニー数は11日後の平均で20区8.3、25℃区23.5、30℃区

表1 試験培地の組成
(海水1 L当りの添加量)

KNO ₃	300 mg
Na ₂ HPO ₄	30 mg
ケルワト32	30 mg
Na ₂ SiO ₃ ·9H ₂ O	150 mg
L-メチオン	0.1 mg
ビタミンB ₁₂	0.2 μg

表2 イトモズクの糸状体培養試験1 (試験期間1992/7/6~8/1)

条 件	温度 培地 通気	20℃						室温 (25~32℃)		
		ミューケル		ミューケル		試験培地		ミューケル		試験培地
		有	有	無	無	無	有	有	有	有
結 果	増加量 (乾燥mg)	7.7	4.7	1.2	N.D	N.D	21.9	9.1	8.9	13.9
	糸状体 の状態	△	△	×	×	×	○	△	△	△

○:良好、△:やや良好、×:不良

表3 イトモズクの糸状体培養試験2 (試験期間1992/8/1~8/19)

条 件	温度 培地 通気	25℃						
		試験培地		リリマクス		リリマクス+試験培地		
		有	有	有	有	有	有	
結 果	増加量 (乾燥mg)	194	161	N.D	113	225	96	
	糸状体 の状態 色	○ 褐	○ 褐	×	×	○ 褐	×	緑*

*: 単細胞の緑藻が混入、残ったイトモズクの糸状体は薄い褐色に変色した。

11、20日後の平均で20℃区47、25℃区25.5、30℃区17.5と11日後の結果では25℃区が高い値であったが、20日後には20℃区が高い結果であったことから、コロニーの出現初期は成長の早い25℃区が多く確認され、その後は経過時間とともにその差は白金耳内に入った元種の多い少ないに左右され不明瞭な結果になったと思われる。試験終了時のコロニーの大きさは平均で20℃区で0.07mm、25℃区1.5mm、30℃区では0.97mmと25℃区の成長が早い値であった(表5)。温度別コロニーの増加率は20℃区で平均22.0%(20.6~22.8%)、23℃区で120%(67.5~174%)、25℃区で105%(80.1~126%)と23℃区が高い値であった(表6)。

今回の試験の結果では20~30℃の範囲の温度別の成長は液体培地での結果では20℃区と25℃区にはほとんど差が見られなかったが、30℃区の増加量は約5分の2程度の成長に留まり、寒天培地上のコロニーの成長から比較すると25℃区は20℃区の約21倍、30℃区は約1.5倍と25℃区が高い値を示し、20~25℃の範囲の寒天培地でのコロニーの成長を増加率で比較すると23℃区は20℃区の約5倍、25℃区の約1.1倍と20℃区の成長が緩慢になった。液体培地と寒天培地での20℃区の糸状体の成長が異なる結果になったが、25℃区はいずれの試験でも成績の良い結果を得られ、寒天培地でのコロニーの成長は23℃区と25℃区に差が見られなかったことから23~25℃前後が増殖に適した温度帯であると思われた。しかし、鹿児島県(1992)の試験では20~23℃を中心とした水温がイトモズクの糸状体の生育に適していることを報告していることから、イトモズクの適正温度についてはさらに検討が必要である。

表4 温度別成長試験(試験期間1992/8/7~8/27)

設定温度	20℃		25℃		30℃	
	1	2	1	2	1	2
結 増加量 果 (乾燥mg)	0.305	0.256	0.265	0.290	0.160	0.084
糸状体 の状態	○	○	○	○	○	△

○：良好、△：やや良好、×：不良

表5 温度別コロニー数の変化と成長 (試験期間1992/8/17~8/29)

設定温度	20°C			25°C		30°C	
	1	2	3	1	2	1	2
試験区							
11日後の コロニー数	8	8	9	28	19	14	8
20日後の コロニー数	57	9	75	32	19	16	19
コロニーの直径*							
平均(mm)	0.065	0.075	0.057	0.98	2.02	0.99	0.95
最大(mm)	0.070	0.090	0.090	1.15	2.37	1.39	1.36

* : コロニーの大きいものから10コロニーを測定して直径を求めた。

表6 温度別コロニーの成長 (試験期間1992/9/2~10/2)

設定温度	20°C			23°C			25°C		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
試験区									
開始時のコロニー数	12	12	12	12	12	12	12	12	12
直径平均(mm)	1.10	1.26	1.23	1.21	1.12	1.57	1.26	1.36	1.15
15日後の 直径平均(mm)	1.19	1.49	1.27	2.05	1.76	1.85	1.78	1.50	1.76
30日後の 直径平均(mm)	1.35	1.52	1.51	3.32	2.52	2.63	2.63	2.45	2.60
増加率 (%)	22.7	20.6	22.8	174	117	67.5	109	80.1	126

(3) 養殖試験

試験結果を表7に示した。育苗網の付きは宮古島島尻では数cmまではかなり良かったが、その他の地区では悪い結果であった。結果の良かった宮古島島尻では平成4年12月5日に網を張り出し、38日後の平成5年1月12日には1~2cmのイトモズク藻体が伸長し、60日後の2月3日には5~15cmに成長した。その後天然のオキナワモズクが約2分の1程度混入した。その他の地区では天然海域へ張り出し後、数週間で種の剥離が多く見られ、網の練り合わせた目に若干糸状体が残っているものの藻体の伸長は確認できなかった。イトモズクの生活環には単相世代と復相世代があり、単相世代の種は糸状体から藻体へ成長しないことが知られている。今回使用した糸状体がどの世代のものかわからないが、純粋培養によって1個の細胞から増殖させた糸状体であることから遺伝的な性質は同じものと考えたとすると網への付着力の弱い形質を受け継いだ種であったものと思われる。宮古島島尻での成功例はその近海でイトモズクの養殖が行われていることから天然あるいは養殖ものからの糸状体の付着の可能性もあり、必ずしも成功とは考え難いため、別の藻体から再度純粋培養を行い検討すべきである。

表7 養殖試験結果

場 所	月 日	枚 数	結 果
糸満市北名城	92/10/02	10	張り出し後、種が剥離。
	92/10/26	10	張り出し後、種が剥離。
与那国島	92/11/25	15	11日目若干種が付着しているが芽だしなし。
鳩間島	92/12/07	15	41日目芽だしなし。
竹富島	92/12/17	10	若干種が付着しているが芽だしなし。
宮古島狩俣	92/11/20	10	20日目網揚げ。芽だしなし。
宮古島島尻	92/12/05	10	38日目1~2cmに伸長。60日目の2月3日には5~15cmに伸長。その後オキナワモズク乱入。

謝 辞

今回の試験を行うに際し、貴重な助言と協力を頂いた瀬底正武氏（八重山支庁）、諸見里聰氏（水産業改良普及所）、仲間勲氏（宮古支庁）、杉山昭博氏（水産試験場）、試験方法についてご指導頂いた当真武氏（現、水産試験場八重山支場長）、業務遂行にあたって特段の配慮を頂いた糸満盛健支場長（現、水産振興課課長）を始め関係職員に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) 杉山昭博(1993)有用海藻類のバイオテクノロジー基礎技術開発研究.
平成3年度沖縄水試事業報, 262-266.
- 2) 当真武(1991): 褐藻イトモズクの生態調査および種苗保存方法の検討.
平成元年度沖縄水試事業報, 145-150.
- 3) 当真武(1992): 褐藻イトモズクの生態調査および種苗保存方法の検討.
平成2年度沖縄水試事業報, 128-140.
- 4) 鹿児島県(1992): 平成3年度沖縄県 鹿児島県水産試験場研究連絡協議会資料