

閉鎖性海域の環境創生プロジェクト研究事業 細胞培養によるアマモの大量増殖技術および造成技術の開発

広瀬和久・橋爪不二夫*・山本有子*・奥村宏征

目的

英虞湾の環境悪化を防止・改善するため、水質浄化機能を有し、魚介類産卵場および幼稚魚の生育場として浅海域の環境に対して重要な役割を果たすアマモ場を造成する技術を確認する。また現在のアマモ場造成は海域で種子を採取しているが、造成の一方で別の海域から種子を採取するという矛盾を内包している。

そこで本研究では、これまではほとんど行われていない細胞培養を利用したアマモの大量増殖方法を検討することにより、新しいアマモ場造成技術の確認を目指す。

方法

1. アマモ場造成技術

まずアマモ場造成の基礎技術を開発するため、伊勢湾〔松阪市松名瀬（平成15年5月30日）+二見町松下池の浦（6月3日）〕及び英虞湾〔阿児町立神立石浦（6月4日）〕でアマモの花穂を採取し、水産研究部に持ち帰った後、流水槽内（容量約2t）で曝気しながら追熟処理を行った。約1月後の6月26日に、底面に沈下したアマモ種子を収集・洗浄し、飽和食塩水を用いてアマモ種子を選別した。選別した種子は、遮光フィルムを貼ったポリエチレン製海水容器（30ℓ）に入れ、気温の高い夏季は2週間に1回、冬期1ヶ月に1回ずつ海水を交換し、曝気しながら冷蔵庫内で保存した。

つぎに保存したアマモ種子の発芽率を確認するため、ガラス瓶（容量200ml）に洗浄した海砂40gを入れオートクレーブし、フィルターろ過20%海水75mlを加えた後、種子25粒ずつ播種し、15℃に設定した弱光下（1,000 lux）の人工気象器内に置いて試験した。

また波浪や潮流の影響がある海域で、アマモが流亡せずに安定した状態で生育するための育苗用基盤として下記の5種類の素材で製作した基盤を試験した。11月22日、各基盤に種子を500粒ずつ播種した後、上記流水槽内に置き、流水条件で育苗させた。（図1）

アマモ苗が十分に生育した約3ヶ月後の平成16年2

月4日、苗をマリンバスケット（鉄製金網籠、30×30×5cm）に入れ、英虞湾内（阿児町立神立石浦）の海底（水深約3m）に、金属製杭で固定した。

a ヤシシート（厚さ；1cm, 5cm）、 b 化学合成繊維シート、 c 水苔、 d コットンバッグ（木綿袋）、 e ステンレス製タワシ

2. アマモ大量増殖技術

まずアマモ植物体の無菌培養技術を開発するため、伊勢湾（松名瀬及び松下池の浦）で採取したアマモの生長点を含む茎組織を切断し、超音波洗浄を5分間行った後、5倍希釈台所用洗剤（有効塩素濃度1%）で10分間除菌処理した。処理した茎組織をさらに外皮をはぎ、生長点の周辺組織を摘出した後、10ml MS（Murashige and Skoog, 1962）+3%ショ糖+0.2M糖類を入れた8cmの試験管内に植え込んだ。また浸透圧調整剤として各種糖類も検討した。これらの試験管は全て15℃恒温、弱光下（1,000 lux）の人工気象器内に置いた。

次にアマモ種子からの幼苗育成と無菌培養技術を開発するため、伊勢湾及び英虞湾で採取したアマモ種子を超音波洗浄30分間、70%エタノール30秒間、2倍希釈台所用洗剤（有効塩素濃度2.5%）1分間の表面殺菌処理を行った。処理した種子を、海砂40gを入れオートクレーブし、フィルターろ過20%海水75mlを入れた試験びんに播種した。2週間後、発芽したアマモ幼苗に等量（75ml）のフィルターろ過100%海水を追加した。2ヶ月後、生長したアマモ幼苗から胚軸を切り出し、人工海水70mlを入れた試験びんに移植した。なお培養容器は全て15℃恒温、弱光下（1,000 lux）の人工気象器内に置いて試験した。

結果

1. アマモ場造成技術

アマモ種子の発芽率及び雑菌汚染率は種子の生育場所により差が認められ、伊勢湾の種子は、発芽率が70.9%

*農業研究部

と高く、雑菌は4.5%と低かった。しかし英虞湾の種子は、発芽率が22.9%と低く、雑菌発生率は70.9%と高かった。(表1)

試作した5種類の育苗用基盤でアマモを育苗した結果、生育率は化学合成繊維シートが39.8%、ステンレス製タワシが37.0%と高く、次いでコットンバッグが29.9%、ヤシシートが29.6%であったのに対して、水苔は14.7%とかなり低かった。またアマモの生育状況は各基盤ともほぼ同様であったが、ヤシシートとステンレス製タワシで生育がやや優っていた。(表2)

なお現地海域に移植したアマモ苗は、移植後約3ヶ月後の観察調査でも順調な生育が確認できた。

2. アマモ大量増殖技術

現地海域で採取したアマモ植物体は、今回検討した除菌条件でほぼ雑菌の発生が抑制できることが分かった。また浸透圧調整剤としてはソルビトールが不適であった以外は、大きな差は認められなかった。(表3)

アマモ茎組織は、培養開始後3週間で1~2cmの鮮やかな緑色の組織に成長したが、一部に生き残った茎組織を継代培養すると5cmほどにまで生長したが、それ以上は持続的に生長させることはできなかった。

また除菌後播種したアマモ幼苗の胚軸を培養したところ、一部に再生した植物体が得られた。

考 察

アマモ種子は、播種前に殺菌することにより雑菌の発生が抑制でき、また播種時に20%海水を用いることで発芽率が向上することが分かった。またアマモ種子は生育場所により差が認められ、多年生である伊勢湾の種子の方が、1年生であると考えられる英虞湾の種子より、発芽率及び雑菌汚染率の点で優れていることが分かった。

アマモ育苗用基盤としては、水苔以外の素材にはあまり差は認められず、また育苗用基盤をマリンバスケット内に設置することにより、現地海域に固定できアマモが順調に生育するものと推察される。

現地海域から採取したアマモ植物体を完全に殺菌することは困難であると考えられるが、少なくとも除菌処理を行うことにより、アマモ組織の生長に悪影響を及ぼさない程度に雑菌濃度を低減することが可能になったものと考えられる。

また本年度の結果から、MS培地よりも海水を基本とした培地でアマモの生育が優れていたが、生長に好適な培地条件についてはさらに検討する必要がある。

表1 アマモ種子の発芽率と雑菌汚染率

採取場所	No	種子数	発芽率 (%)	雑菌汚染率 (%)
伊 勢 湾 (松名瀬+池の浦)	1	300	53.3	8.3
	2	1,000	75.0	5.3
	3	750	81.9	0.0
平 均		683	70.1	4.5
英 虞 湾 (立神立石浦)	1	200	25.0	75.0
	2	150	20.7	66.7
平 均		175	22.9	70.9

表2 基盤用基盤でのアマモの生育

育苗用基盤	生育率 (%)	葉 数	葉長 (cm)	根 数	根長 (cm)
ヤシシート	29.6	2.8	15.3	3.4	3.0
化学合成繊維	39.8	2.6	12.7	3.7	2.7
水 苔	14.7	2.6	12.6	3.5	2.6
コットンバッグ	29.9	2.5	11.8	3.4	2.8
ステンレス製タワシ	37.0	2.7	15.3	4.0	3.0
平 均	30.2	2.6	13.5	3.6	2.8

表3 各種浸透圧調整剤の初期培養に対する影響

浸透圧調整剤	供試数	初期生育率 (%)	雑菌汚染率 (%)
Mannitol	179	55.9	6.1
Glucose	40	60.0	0.0
Sorbitol	40	22.5	10.0
Fructose	40	57.5	5.0
Sucrose	40	47.5	2.5