

水温管理によるアマモ種子短期保存

草加 耕司

Preservation with Various Temperatures for Eelgrass *Zostera marina* Seeds

Koji Kusaka

キーワード：アマモ，種子，保存方法

戦後の高度経済成長期以降，瀬戸内海を中心に激減したアマモ *Zostera marina* 場は，魚介類の育成場となる「海のゆりかご」として，また，沿岸域の環境改善等の側面からも重要視され，各地でその復元に向けた造成の取り組みがなされている¹⁾。

アマモ場の造成法としては，草体を移植する株移植法と種子を播いて増殖を図る播種法に大別されるが，岡山県では株の移植元となりうる広大なアマモ場が少ないことや，広域なアマモ場再生の必要性から，播種法に絞った技術開発研究が行われてきた²⁾。播種造成に用いる種子の確保については，川崎ら³⁾の研究報告等に基づきマニュアル化され，春季の天然アマモ場において結実した花枝ごと採取した後に種子のみ回収し，冬季の播種までの間，20~23℃または5℃以下で管理することにより健全に保管できる⁴⁾とされてきた。ところが近年，これらの条件下でも採集年や産地によって，保存期間中の発芽抑制率あるいは播種後の発芽率の低下が問題となっている。

一方，本県東備地区の漁業者が主体となったアマモ場造成活動では，ネット袋詰めした花枝の海面垂下のみによる手間と経費をかけない簡易な回収方法⁵⁾で，20年以上にわたり年間数百万粒の大量種子確保が可能になっているが，粗放的であるが故に，保存中の腐敗など廃棄率が高く，播種後の発芽率も10%以下と低い⁶⁾。同地区ではこれらの種子を用い，5か年で計10haのアマモ場再生事業が今後順次計画されており⁷⁾，周辺アマモ場の花枝形成状況によっては種子不足も懸念されるため，より発芽率の高い種子の効率のかつ計画的な確保が課題となっている。

そこで，異なる温度でアマモ種子を管理したあと発芽試験を実施し，種子を播種時期まで健全な状態で保存す

るための水温条件について検討したので報告する。

材料と方法

供試したアマモ種子は，2008年6月6日に岡山県瀬戸内市牛窓町黒島北の多年生アマモ場から花枝ごと採取し，岡山県水産試験場の陸上水槽で追熟したものである。50本ずつに花枝を束ね，ろ過海水をかけ流しにした500lパンライト水槽に収容して，約2か月間，種子以外の葉片が枯死分解するまで保管した。8月5日，篩を使い夾雑物を取り除いた後，海水1l当たり250gの食塩を溶解した濃塩水による比重選別で沈下した高比重の種子のみを回収した。回収した優良種子は，保存試験までの1週間，再びろ過海水の流水下で管理した。

保存試験では，冬季の播種時期までの約半年間，異なる温度条件下で種子を海水中に静置し，保存中の枯死と発芽の観察，及び保存後の発芽試験を実施した。温度試験区の設定は，-1℃，3℃，20℃，自然海水温（以下，常温とする）の4区とし，各区ごと8月13日に前述の種子約4,500粒（湿重量約50g）を直径88mm，高さ115mmの500mlポリびんに収容した。常温区ではびんの上部から自然水温のろ過海水をかけ流したが，その他の温度区は，海水を清浄に保つため100gの粒状活性炭（ヤシ殻製活性炭素，ナカライテスク）と種子を混ぜ合わせ，ポリびんをろ過海水で満たして密閉し，それぞれの温度に設定した暗黒のインキュベータ内に静置した。ほぼ20日おきに換水を行い，同時に枯死及び発芽種子を計数し除外した。162日後の保存試験終了時には，再び濃塩水による比重選別を行い，優良種子の保存率を求めた。

発芽試験では，年内の11月27日（106日保存）と年明け後の1月22日（162日保存）から，花枝採取地で採泥した底泥に保存試験中の種子を播種して，100日間追跡した。

バット (300×400×70mm) にアマモ場の底泥を 4 cm厚に入れ、各試験区当たり100粒の種子をピンセットで 2 cm層に埋設し播種とした。各バットは同一水槽内に静置して、自然水温のろ過海水をかけ流した。なお、常温区は11月27日のみ実施した。原則として、毎日10時と3時に水槽内の水温を計測するとともに、数日おきに発芽状況を観察し、上胚軸が覆土上に伸長したものを発芽種子として記録した。結果の解析は Tukey の多重比較により、有意水準 5% で検定した。

結 果

種子の回収 試験期間中の水温経過を図1に示した。6月上旬に約20℃の海域で採取された花枝は、7月上旬には枯死しながら花穂中に成熟種子を形成した。26℃となった7月下旬には、花枝がほとんど腐敗して分解した。更に8月上旬には日中の水温が30℃を越えるまでになったため、8月5日に種子の回収と比重選別を行ったが、これらの作業で除外された不良種子は僅かで、陸上水槽での種子の追熟、回収は良好に経過した。

保存試験 保存水温別の枯死率の経日変化を図2に示

した。保存期間中-1℃, 3℃, 20℃区においては、枯死種子がほとんど確認されず、162日目の累積枯死率はそれぞれ0.02%, 0.13%, 0.11%とごく低率であった。常温区では8~9月に28℃以上の高水温日の頻度が高かった影響か、この時期に腐敗種子が多く、その後12月にも枯死例が確認されて、1月22日、162日目の累積枯死率は5.2%と他区よりも高くなった。検定の結果、累積枯死率は常温区とそれ以外の3区の間でのみ有意差がみられた。

全種子数から発芽数を減じて発芽抑制種子とし、保存水温別の発芽抑制率の経日変化を図3に示した。保存期間中の発芽は-1℃区を除き、43日目、9月下旬から確認され始め、3℃区では63日から106日目にかけて急増し、以後、発芽抑制率は30%台に低下した。一方、20℃区は終始僅かな発芽数に留まり、発芽抑制効果が高かった。-1℃区では63日目までの発芽は皆無で、106日目までは20℃区と同様に経過したが、それ以降に発芽が増加した。162日目の発芽抑制率は3℃:30% < -1℃:84% < 常温:87% < 20℃:98%の順で高くなり、全ての試験区間で有意差がみられた。

前述の枯死と発芽の両面から有効性を評価するため、

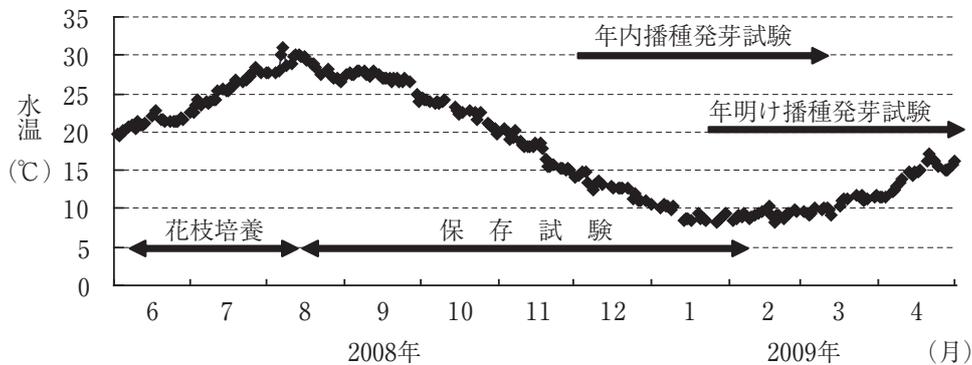


図1 試験期間中の水温経過

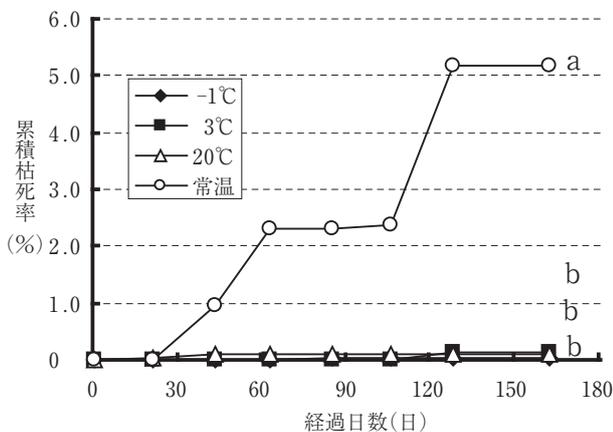


図2 保存水温別の枯死率の経日変化

アルファベットは同一文字間で有意差なし

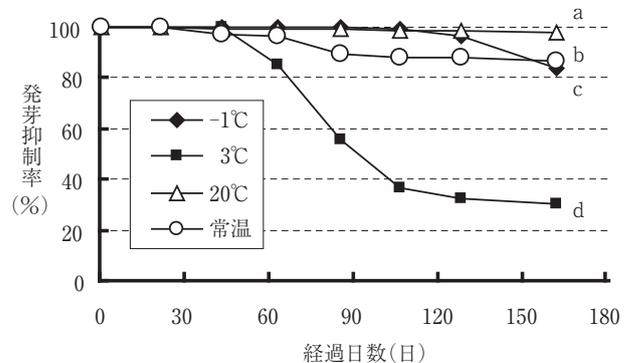


図3 保存水温別の発芽抑制率の経日変化

アルファベットは同一文字間で有意差なし

全種子数から保存期間中の枯死数と発芽数を減じて有効保存数とし、有効保存率の経日変化を図4に示した。保存終了時には、濃塩水処理を追加したため多くの低比重種子が除外され、有効保存率を下げた。特に常温区では、それまで保存されてきた種子の過半数が低比重の不良種子となった。最終173日目の有効保存率は、3℃：25%＜常温：28%＜-1℃：77%＜20℃：87%の順に高く、全ての試験区間で有意差がみられた。

発芽試験 年内播種（106日保存後）における発芽率の経日変化を図5に示した。試験開始時の水温は15.1℃であったが、途中8.2℃にまで低下した。常温区を除き播種後10日頃から発芽が確認され始め、-1℃区では15日から20日目と早期にピークがみられ30日目には発芽率60%を越えて一定値に達した。一方、20℃区では播種20～25日頃に発芽がやや集中したものの、その後60日頃までだらだらと続いた。3℃区では、発芽が低調で一定の傾向がみられないなか、80日頃まで継続した。常温区では、保存中に活性を損ねたのか、ほとんど発芽しなかった。播種100日目の発芽率は、常温：4%＜3℃：34%＜-1℃：67%≤20℃：77%の順で高くなり、-1℃と20℃区間以外は有意差がみられた。

年明け播種（162日保存後）における発芽率の経日変化

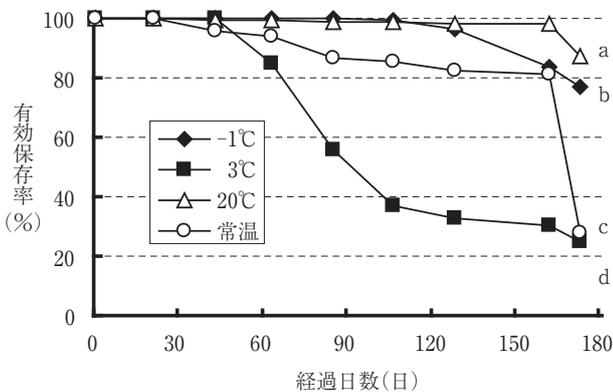


図4 保存水温別の有効保存率の経日変化
アルファベットは同一文字間で有意差なし

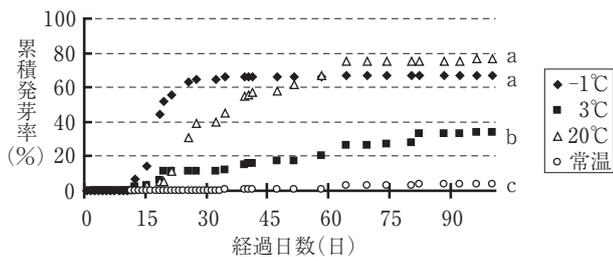


図5 年内播種（106日保存後）の発芽率の経日変化
アルファベットは同一文字間で有意差なし

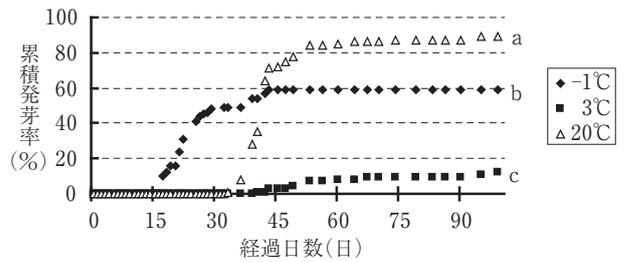


図6 年明け播種（162日保存後）の発芽率の経日変化
アルファベットは同一文字間で有意差なし

を図6に示した。試験開始時の水温は8.5℃で、終了時には16.1℃となった。-1℃区では、年内播種と同様に15～30日頃に発芽の初認とピークがみられ、43日には約60%で一定値に達した。一方、20℃区では-1℃区より約20日遅れて35～45日頃にピークがみられ、年内播種に比べ遅くから短期間で80%以上に達した。3℃区は年内播種の発芽状況よりいっそう低レベルとなった。播種100日後の発芽率は、3℃：12%＜-1℃：59%＜20℃：89%の順で高くなり、すべての試験区間で有意差がみられた。

以上の年内と年明け播種の発芽試験結果から、発芽時期は-1℃区が他区よりも明らかに早いこと、発芽率では3℃＜-1℃＜20℃の順に高くなることが分かった。

考 察

アマモ種子の保管については、20～23℃、塩分30～35 PSUの海水中で活性炭を被覆する方法、あるいは5℃以下での冷蔵保存法が適する⁴⁾とされ、各地でこれに準じた作業が行われている。今回の試験は、これら既往知見の再確認と大量種子保存への適応検討を目的とした。その結果、前者は保存中の種子の枯死と発芽を抑制し、保存後の発芽力も損なわない優れた方法であることが再確認されたが、後者では十分な発芽抑制ができないことが分かった。川崎ら⁸⁾は種子の産地によって、発芽水温が異なることを報告している。3℃の条件は発芽の好適水温5～10℃⁹⁾に近似することから、産地の違い等に起因する発芽特性のずれを抑えきれず、すべての種子に適応できないためと考えられた。

次に、本県東部地区で行われている海面での種子採取を想定した常温流水保存では、高水温期の枯死が多く、この影響が見かけ上生存している種子の保存後の発芽率も著しく低かった。高水温下での種子の発芽障害について川崎らは⁸⁾、35℃で発芽能力を失うとしている。県東部の種子管理を行う海面では、夏季には30℃を越えるため、今回の試験同様の厳しい水温条件にさらされて枯死

又は活性を下げているものと推察された。

一方、今回新たに試みた -1°C の氷温保存では、 20°C 区には及ばないものの、高い保存効果と保存後の良好な発芽が確認された。特に106日目までの有効保存率は99%と高く、それ以降に急増する発芽がやや問題となるものの、数か月の保存、年内播種用としては十分に有効な保存法と考えられた。更に、今回の 20°C 区では約20日おきの換水でも、雑菌等の増殖に伴う若干の海水白濁がみられ、そうした低酸素と還元条件が発芽を促進する³⁾ことが知られていることから、高頻度の換水の必要性を感じたが、 -1°C 区では全く清浄海水のままであり、換水頻度の低減も可能と考えられた。大量種子保存の現場では、常に省力化が課題となるため、相応規模で -1°C の冷蔵庫が確保できれば、有効な方法になり得ると評価された。

また、 -1°C 区が 20°C 区と比較して播種後の発芽率で劣った原因は不明であるが、早期に短期間で集中発芽する傾向が明らかで、氷温処理による何らかの発芽促進作用付加の可能性も示唆された。水温管理による保存中の発芽停止は、発芽に不適な温度環境によって生長を起こさない環境休眠⁹⁾による技術で、狭義の休眠とは区別されるべきかと考えられるが、アマモ種子に関する知見が少なく、詳細は明らかでない。今後、播種によるアマモ場造成を計画的に推進するためには、種子の休眠性や発芽の生理・生態を明らかにし、種子の中期保存や発芽促進法¹⁰⁾についても更に検討する必要がある。

文 献

- 1) マリノフォーラム21 海洋環境保全研究会 浅海域緑化技術の開発グループ, 2002: アマモ場造成の基本的な考え方, アマモ場造成技術指針, 3-8.
- 2) 田中丈裕, 1998: アマモ場再生に向けての技術開発の現状と課題, 関西水圏環境機構第11回公開シンポジウム要旨集, 25-47.
- 3) 川崎保夫・飯塚貞二・後藤 弘・寺脇利信・渡辺康憲・菊池弘太郎, 1988: アマモ場造成法に関する研究, 電力中央研究所報告, 総合報告U14, 231pp.
- 4) 水産庁・マリノフォーラム21, 2008: アマモ場再生を計画する, アマモ類の自然再生ガイドライン, 301-349.
- 5) 福田富男, 1987: アマモ場造成に関する研究-VIII 播種によるアマモ場造成, 岡山水試報, 2, 35-37.
- 6) 草加耕司・福田富男, 2005: 土のう式播種基体によるアマモ場造成適地判定の試み, 岡山水試報, 20, 14-18.
- 7) 鳥井正也・山田勝美・佐伯信哉・前野 仁・平原 渉, 2008: 東備地区広域漁場整備事業における順応的管理手法を導入したアマモ場造成の実践, 海洋開発論文集, 24, 753-758.
- 8) 川崎保夫・飯塚貞二・後藤 弘・寺脇利信・菊池弘太郎, 1985: 産地の異なるアマモの発芽水温と発芽時期について, 日本水産学会春季大会講演要旨集, 189.
- 9) 川崎保夫・飯塚貞二・後藤 弘・寺脇利信・下茂 繁, 1986: アマモへの温度の影響 I. 発芽と発芽体の生長, 電力中央研究所報告, 研究報告485028, 18pp.
- 10) 山木克則・小河久朗・吉川東水・難波信由, 2006: アマモ種子における塩分および温度制御による発芽促進効果, 水産増殖 54(3), 347-351.