

アサクサノリの育種に関する研究

藤井 直幹
(有明海研究所)

現在のノリ養殖にはスサビノリ *Porphyra yezoensis* Ueda から選抜育種された品種が用いられている。しかし、より美味しいノリを求めるニーズや製品の差別化のため、アサクサノリ *P. tenera* Kjellman のノリ製品が求められている。しかし、既存のアサクサノリ品種は生長が遅く、スサビノリが主流である漁場ではアサクサノリの養殖は困難であることが分かっている。

アサクサノリの養殖が困難である原因は生長の遅さに加えて、周辺漁場で養殖されているスサビノリが付着し、生長で競り負けてしまうことである。

本研究はプロトプラストを利用したアサクサノリの育種に取り組み、プロトプラストから再生し高生長を示した葉状体を分離し、自家受精により糸状体を固定、分離株を作成した。室内培養試験において、この分離株から採苗後、生長した葉状体は既存のアサクサノリ品種と比較して高生長を示した。また、分離株を野外養殖試験に用いた結果、摘採可能サイズとなるまで日数を要したが、アサクサノリ品種の乾ノリを作ることができた。

キーワード：アサクサノリ、プロトプラスト

一般的に、ノリ養殖に用いられるアマノリ類の種は主にスサビノリとアサクサノリであるが、現在のノリ養殖には、耐病性と多収性の点で選抜育種が行われた結果、スサビノリ系の品種が用いられている。

近年、稀少性、差別化等の理由によりアサクサノリのノリ製品が求められていることから、有明海研究所ではアサクサノリの養殖に取り組んだ。しかし、既存のアサクサノリ品種は殻胞子から生長した葉状体の一部から分離して生じる単胞子（二次芽）量が多いことに起因する生長の鈍化に加え、周辺の漁場から流れて付着したスサビノリに生長が競り負けるため、養殖は困難であることが明らかとなった。¹⁾

本研究は、アサクサノリへプロトプラストを利用した選抜育種を行い、高生長を示す株を作出することを目的とした。

方 法

1. 選抜育種と既存アサクサノリ系品種の生長比較

選抜育種には有明海研究所が所有しているアサクサノリ系品種のオオバグリーンを用いた。^{2,3)}

選抜育種の前培養として、室内採苗によってクレモナ糸に付着させたオオバグリーンの殻胞子を1/枝付フラスコで35日間通気培養した。

前培養において殻胞子から生長した葉状体のうち最大葉長を示した葉状体を選抜し、プロトプラスト化した。⁴⁾

プロトプラストは10日間アガロースゲル中で静置培養した後、SWM-III 改変培地で40日間通気培養した。プロトプラストから葉状体へ再生した中から、最大葉長を示した葉状体を再びプロトプラスト化し、同様の培養を経た後に最大葉長を示した葉状体を分離し、自家受精によりフリー糸状体を得た（以後分離株とする）。

分離株が糸状体期を経た後も高生長形質を発現できるか確認するために、分離株、分離株の元となった品種であるオオバグリーン、既存のアサクサノリ系品種であるオオバアサクサ、サシキアサクサ、種苗登録品種の福岡有明1号（スサビノリ品種）を用いて室内培養試験を行った。

生長の比較は室内採苗によってクレモナ糸に付着させた分離株及び各品種の殻胞子を1/枝付フラスコで28日間通気培養し、葉長及び葉幅を測定することにより行った。

また、分離株、アサクサノリ系品種については培養7日目以降に新規のクレモナ糸を投入し、7日毎にクレモナ糸の交換とクレモナ糸に付着した単胞子数を計数した。クレモナ糸に付着した単胞子数は、フラスコ内の葉状体数で除して、クレモナ糸1cm に付着した単胞子数を葉状体1枚あたりに換算した。

選抜育種を含む室内培養試験には、地先海水を基本海水とした SWM - III 改変培地を用い、培養条件は温度 18°C、塩分 30、日長周期 11L : 13D、光強度 $104 \mu\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ とした。培地は 7 日毎に交換した。

2. 分離株の野外養殖試験

分離株が養殖品種として漁場での養殖が可能であるか確認するために、野外養殖試験を行った。

野外養殖試験に使用するカキ殻糸状体を作るため、水槽に並べたカキ殻へ、分離株のフリー糸状体をミキサーで裁断し蒔きつけた。培養海水は次亜塩素酸ナトリウムで殺菌し、市販のノリ糸状体用の栄養剤を規定量添加した。8 月まで月 1 回の頻度で培養海水の交換を行った。採苗は野外採苗を行った。試験漁場の幅 18m、長さ 36m 区画に、長さ 10.5m の FRP 製の支柱を、1 列に 11 本ずつ 6 列を建て込み、18m × 1.8m のノリ網を 24 枚重ね、ビニール製の落下傘と呼ばれる袋にカキ殻糸状体を 1 枚ずつ入れ、約 200 枚を、重ねたノリ網の下に吊り下げ、漁場へ張り込みを行った。

採苗後のノリ網は、周辺漁場で養殖されているスサビノリと同様の干出を与えて管理を行い、生長してきたノリ葉状体を種判別を行うためにサンプリングした。

3. 種判別

野外養殖試験でサンプリングしたノリ葉状体の種判別は DNA 解析により行った。網糸から最大葉長群のノリ葉状体を 5 枚分離し、それぞれを DNA 抽出に供した。

ノリ葉状体の DNA は、DNA 抽出キット ISOPLANT (日本ジーン) にフェノール処理 1 回、フェノール/クロロフォルム処理 1 回を加え DNA を抽出した。

DNA はプライマー AB28, TW81 により PCR 増幅した。PCR 産物は、制限酵素 Dra I, Hae III を用いて 37°C で 5 時間処理した。⁵⁾ 処理したサンプルは 2% のアガロースゲルで電気泳動を行い、エチジウムブロマイド液で染色、UV 照射の下観察、撮影した。

結 果

1. 選抜育種と既存アサクサノリ系品種の生長比較

分離株と各品種の葉長、葉幅を測定した結果を図 1, 2 に示す (平均と標準誤差)。平均葉長、平均葉幅は分離株 64.8mm, 3.3mm, オオバグリーン 6.8mm, 1.0mm, オオバアサクサ 25.1mm, 0.5mm, サシキアサクサ 1.0mm, 0.1mm, 福岡有明 1 号 25.2mm, 2.0mm であった。分離株の葉長、葉幅は元株であるオオバグリーンを含めた既存アサクサノリ品種、スサビノリである福岡有明

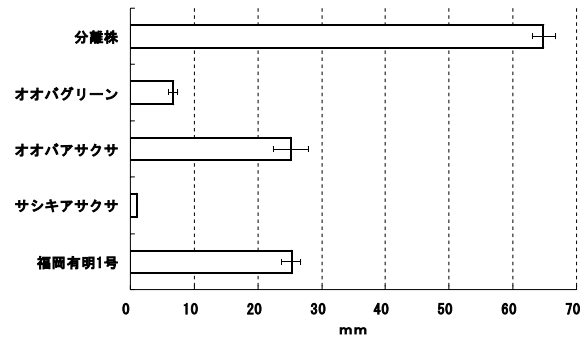


図 1 室内培養での分離株と既存品種の平均葉長

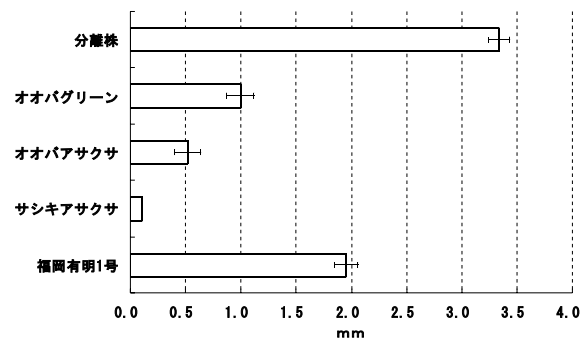


図 2 室内培養での分離株と既存品種の平均葉幅

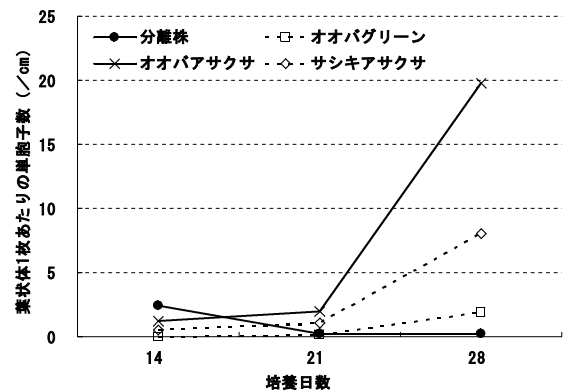


図 3 アサクサノリ品種の単胞子数の推移

1 号を上回った。

図 3 に単胞子の放出状況を示す。培養 7 日目から 14 日目までに付着した単胞子数は分離株 2.4 個、オオバグリーン 0 個、オオバアサクサ 1.2 個、サシキアサクサ 0.5 個と分離株の単胞子数は多かったが、培養日数の経過とともに分離株の単胞子数は減少し、オオバグリーン、オオバアサクサ、サシキアサクサの単胞子数は増加し、特にオオバアサクサの単胞子数は 19.8 と著しい増加が観察された。

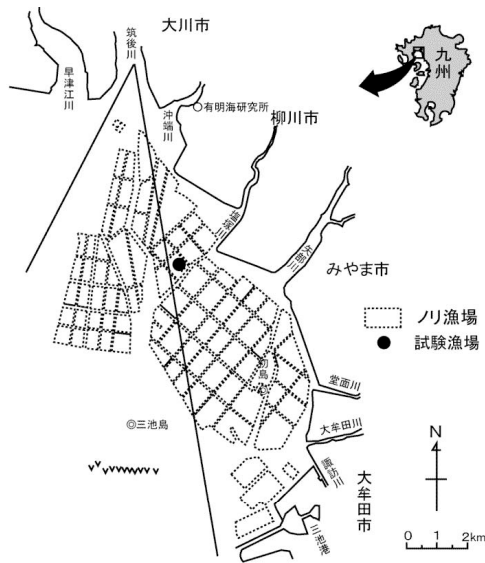


図4 試験漁場の位置



図5 野外養殖試験で生長した葉状体

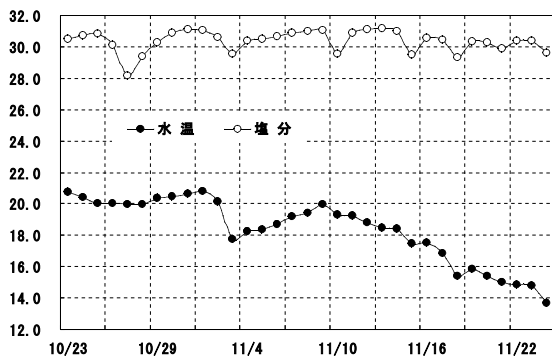


図6 試験養殖漁場の水温、塩分の経過

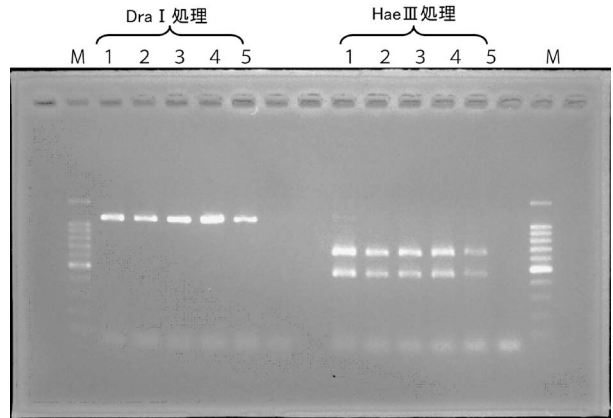


図7 rDNA ITS領域のPCR-RFLP分析結果
アサクサノリは Hae IIIで処理すると 440bp, 640bp 付近に2つのバンドが観察される

2. 分離株の野外養殖試験

野外養殖試験は、図4に示す試験漁場で2009年10月23日に分離株のカキ殻糸状体を入れた落下傘を吊したノリ網を張り込み開始した。分離株の殻胞子は10月24日にノリ網へ付着が確認され、10月26日に殻胞子数を網糸1cm当たり約200個とした段階で採苗を終了した。採苗後のノリ網は、周辺漁場で養殖されているスサビノリと同程度に干出を与えて養殖を行い、採苗後33日となる11月24日に図5に示す、葉長約40mmの葉状体をサンプリングした。

養殖試験期間中の試験漁場の昼満潮時の水温、塩分の経過を図6に示す。野外採苗を開始した10月23日は水温20.8°Cであり、11月2日まで水温は横ばいで推移した。11月3日には一度、17.7°Cまで低下したが、その後、昇温傾向となり11月9日には20.0°Cとなったが11月10日以降、水温は低下を続け、11月24日には13.7°Cとなった。塩分は、期間中28.0から31.1で推移した。

ノリ生産は、摘採可能サイズである葉長約300mmに達した12月1日に行った。また、あかぐされ病の感染が酷かったため、ノリ網の撤収を行い野外養殖試験を終了した。

分離株は、採苗日から起算して40日令で摘採可能サイズまで生長した。

3. 種判別

野外養殖試験で得た葉状体の rDNA ITS 領域の PCR-RFLP 分析結果を図7に示す。rDNA ITS 領域の PCR-RFLP (Hae III 処理) 結果、最大葉長群から抽出した5枚のノリ葉状体はそれぞれアサクサノリ型泳動像を示した。

考 察

プロトプラストを利用した育種の結果、高生長を示すアサクサノリ品種（分離株）の作出に成功し、分離株は野外養殖が可能であることも証明できた。

過去、既存のアサクサノリ品種を用いた野外養殖試験では、生長してくる葉状体は、DNA 解析の結果、全てがスサビノリであり、スサビノリが養殖されている漁場では、スサビノリの単胞子が生長の遅いアサクサノリを養殖しているノリ網に付着し生長することで、アサクサノリを採苗しても生産する段階でスサビノリに置き換わるという状況となっていた。¹⁾

図1、2に示した室内培養試験の結果、既存アサクサノリ品種は生長は悪いが、分離株の生長は良く、既存アサクサノリ品種は分離株と比較して単胞子の放出量が多い（図3）。これらの培養結果から、既存アサクサノリ品種は従来の生長の悪さに加えて、生長の過程で多くの単胞子数を放出することにより生長の悪さに拍車がかかっていることが明らかとなった。また、分離株は糸状体期を経ても高生長形質を示したことから、分離株の高生長を示す形質は遺伝的に安定していると推察された。

これまで、ノリの選抜育種はスサビノリを中心に行われており、プロトプラストを利用したスサビノリにおける育種は、本県では低塩分での高生長を選抜指標とした育種に実績があるが、²⁾本研究により、プロトプラストを利用した選抜育種法はアサクサノリにも有効であることが証明された。

分離株は野外養殖試験において、摘採可能サイズである葉長300mm 程度まで生長するのに40日を要したが、スサビノリは34日で摘採可能サイズに達しており、アサクサノリの養殖は可能となったが、摘採可能サイズに達するまで、スサビノリと比較して若干時間を要した。

分離株は室内培養試験でスサビノリを上回る生長を示したが、室内培養試験は期間中に干出を与えないことが野外養殖試験と大きく異なり、野外養殖試験での

干出が分離株の生長に影響を与えたと推察された。

また、分離株は乾ノリに加工する段階で非常に破れやすく、加工が困難であることが判明した。これは、採苗時にスサビノリが付着しないようノリ網への殻胞子の付着数を多くしたこと（有明海福岡県海域でのノリ網への殻胞子数の適正範囲は20～75個/cm）により葉状体の付着密度が高くなりすぎたことにより葉状体が細くなってしまったことが原因と推察された（私信）。

分離株の乾ノリは、質感、食感がスサビノリの製品と異なるため、乾ノリの硬さ、溶けやすさ等を数値化して、スサビノリの乾ノリと比較する品質評価が今後の課題となったが、アサクサノリ品種の養殖に目途がついたので、分離株の種苗登録を行い県内漁業者へ普及を図っていきたい。

文 献

- 1) 藤井直幹：有明海におけるアサクサノリの養殖試験。福岡県水産海洋技術センター研究報告 2008；第18号：155-159.
- 2) 福澄賢二・岩渕光伸：AFLP 法による養殖ノリ品種の系統分類。福岡県水産海洋技術センター研究報告 2005；第15号：23-27.
- 3) 社団法人日本水産資源保護協会：昭和54年度種苗特性分類調査報告書。昭和55年3月（1980）；12-13.
- 4) 岩渕光伸・福永剛：ノリのプロトプラスト，単離細胞及び組織片の培養による優良株クローン種苗化技術開発研究（V）. 福岡県有明水産試験場研究業務報告 1992；平成2年度：9-25.
- 5) K. NIWA AND Y. ARUGA: Identification of currently cultivated *Porphyra* species by PCR-RFLP analysis, *FISHERIES SCIENCE*. 2006；72:143-148.
- 6) 福永剛・岩渕光伸：低塩分条件下で選抜したアマノリ系統の特性。福岡県水産海洋技術センター研究報告 2004；第14号：45-49.