

低塩分条件下で選抜したアマノリ系統の特性

福永 剛・岩渕光伸
(有明海研究所・研究部)

Characteristic of *Porphyra* spp. selected in low salinity condition

Takeshi FUKUNAGA, Mitsunobu IWABUCHI*¹
(Ariakekai Laboratory・Research Department)

アマノリ類は従来から生長や品質の良い品種が選抜され、その生産は病害や植物プランクトンの増殖による栄養塩の低下の影響を除けば、量的、質的に安定している。しかし、河川水の影響を強く受ける河口漁場では、恒常的な低塩分のためノリ葉体の生長不良や異形化による収量や品質の低下が見られ、その生産性は低いが、河口漁場は、'00年年度漁期のように漁場の大部分が栄養塩低下した場合でも、安定した栄養塩レベルを保ち、ノリの色調低下（色落ち）を起こしにくい。そのため、河口漁場は育種によって低塩分耐性品種を開発することができれば優良漁場となりうる。

そこで、本研究ではプロトプラスト再生系を利用して作出された低塩分耐性株について、形質評価を行うとともに、その形質が遺伝的に固定されたものかを確認するためDNA解析を行った。

方 法

1. 供 試 株

本研究では藤井¹⁾が '97年から'99年にかけて作出し、保存されていたFA89株を低塩分下で選抜した9株と元株のFA89の計10株（表1）を用いた。

表1 実験に使用したFA89選抜系統

	海水濃度 (%)	第一回選抜			100
		50	60	70	
第二回選抜	50	50-50	60-50	70-50	元株
	60	50-60	60-60	70-60	
	70	50-70	60-70	70-70	
	100				

これらの株は2回の低塩分選抜を行ったもので、株名の表記は（1回目の選抜での海水希釈率）－（2回目の選抜での海水希釈率）とした。たとえば、FA89₆₀₋₆₀は葉体をプロトプラストにした後、60%海水で培養し生長の良い葉体の中から選抜された葉体1枚を再びプロトプラスト化し、60%海水で選抜したのちフリーリビング糸状体（以下、フリー糸状体）を採取して固定した株である。

2. 室内培養における生長比較

(1) 葉体の採苗

各株のフリー糸状体をカキ殻に播種し、養成したカキ殻糸状体に低温処理を行い、殻胞子を放出させ試験糸に附着させ、採苗を行った。

(2) 培養条件

培養に用いた低塩分海水は蒸留水を用いて作製した人工海水（ジャマリンU，ジャマリンラボラトリー社製）を蒸留水によって所定の塩分濃度に希釈したものである。この各塩分濃度の海水を用いて栄養を強化したSWM-III改変培地を作製し、通気培養を行った。

培養条件は温度18℃，照度白色蛍光灯下8000lux 日長周期11L：13Dとした。

(3) 低塩分耐性株候補の抽出

表1に示した全て10株を50，60，70%海水中（塩分15，18，21）で試験培養した。

生長の評価は培養後30日目に高生長を示した上位30個体のさく葉標本作製し、葉長と葉幅の測定結果から、生長の優れた株を抽出した。

(4) 候補株における低塩分耐性の再検討

(3)の結果で生長が良好であった低塩分耐性株FA89₆₀₋₆₀

*1 現有明海研究所

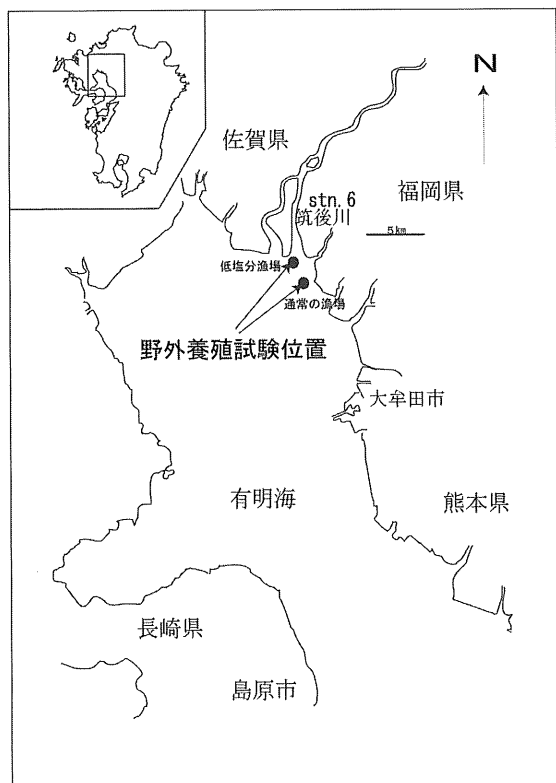


図1 野外養殖試験実施箇所

および対照として元株FA89の2株について60,70,100%海水中で培養した。生長の評価は(3)低塩分耐性候補株の抽出と同様の方法で実施した。

3. 野外養殖試験

(1) 供試株

供試株として最も強いストレスで選抜された、FA89₅₀₋₅₀株ならびに室内培養試験の結果から最も生長が良好であったFA89₆₀₋₆₀株の2株を候補として用いた。また、対照株は元株FA89株とした。

(2) 養殖試験

FA89₅₀₋₅₀株およびFA89元株の冷凍網(同一条件で育苗)を'00年12月4日から低塩分漁場(筑後川河口域)および通常の漁場(七つはぜ)において養殖し(図1)、生長およびノリ網6枚当たりの収量を湿重量で比較した。また、FA89₆₀₋₆₀株およびFA89元株の冷凍網についても同様の漁場に'01年12月11日に張り込み、野外養殖試験を行った。調査項目は収穫量(乾ノリ枚数)品質(等級)および単価とした。また、数人の生産者に対して、試験養殖を依頼し聞き取り調査を実施した。

4. AFLP法によるDNAレベルでの差異の検出

低塩分耐性はDNAの突然変異によって獲得されたものなのか、AFLP法はその変異を検出可能かどうかを確

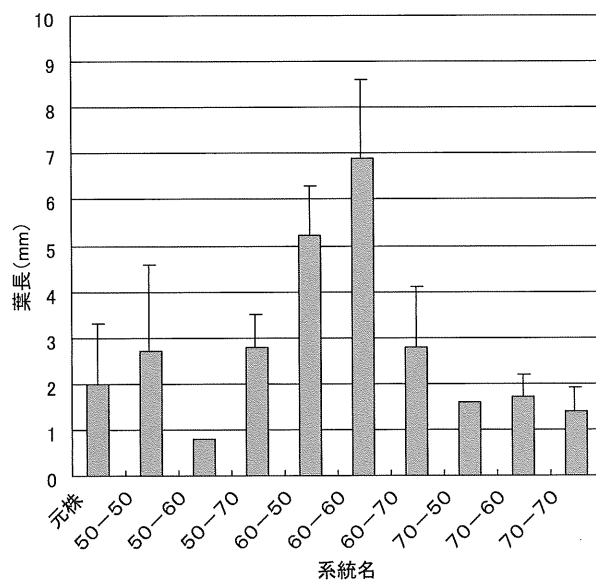


図2 室内培養における各系統の生長 (60%海水)

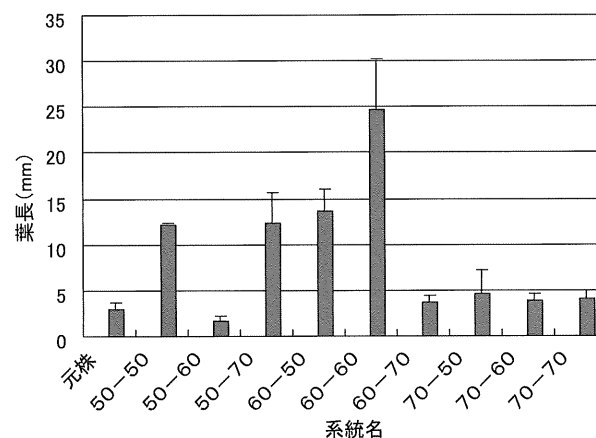


図3 室内培養における各系統の生長 (70%海水)

認するため、低塩分耐性に有意な差が認められる系統を岩淵²⁾の方法でAFLP解析を行った。すなわち、FA89元株、FA89₆₀₋₆₀株およびFA89₅₀₋₆₀株のノリ葉体からDNAを抽出し、AFLP解析を行って多型を示す増幅断片が存在するかどうか検討した。プライマーペアはO-A, O-G, O-C, O-Tの4通りの組み合わせを用いた。

結 果

1. 室内培養における生長比較

(1) 低塩分耐性株候補の抽出

50%海水区ではほとんどの系統で生残が認められなかった。60%海水区ではFA89₆₀₋₆₀株、ついでFA89₆₀₋₅₀株が好生長を示し、この傾向は70%海水区でも同様であった(図2,3)。

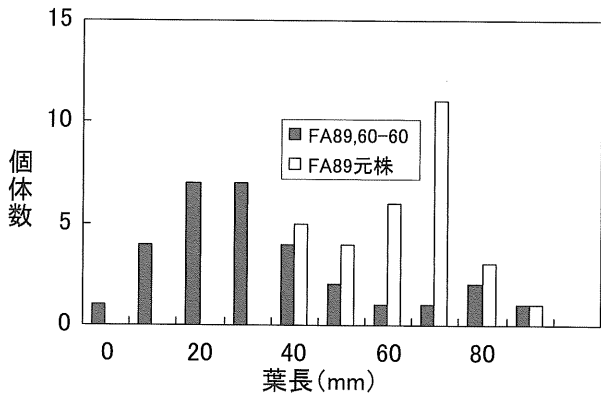


図4 室内培養におけるFA89₆₀₋₆₀株および元株の生長 (100%海水)

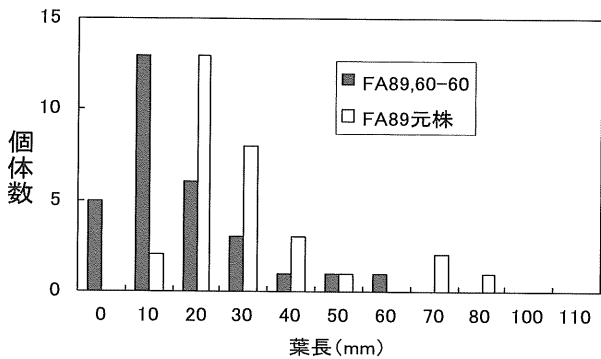


図5 室内培養におけるFA89₆₀₋₆₀株および元株の生長 (70%海水)

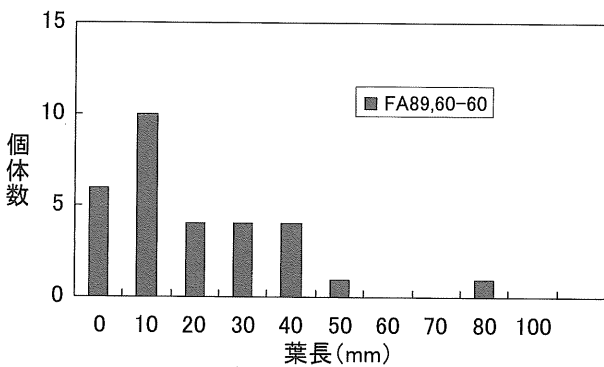


図6 室内培養におけるFA89₆₀₋₆₀株および元株の生長 (60%海水)

(2) 候補株における低塩分耐性の再検討

葉長は100%海水区で耐性株40.0±23.2mm, 元株57.0±15.0mm, また, 70%海水区で耐性株24.6±17.4mm, 元株31.0±14.4mmとこの2区では元株の方が生長が勝っていた(図4, 5)。しかし, 60%海水区では元株は全く生残せず, 耐性株は24.3±19.1mmと高生長を示し

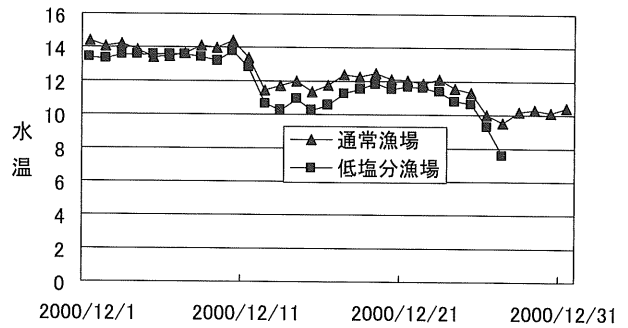


図7 野外養殖試験中の水温変動 (2000年)

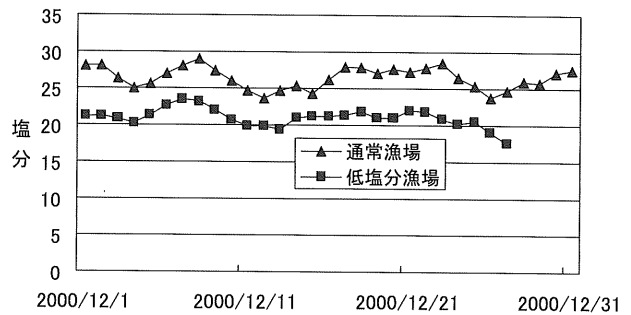


図8 野外養殖試験中の塩分変動 (2000年)

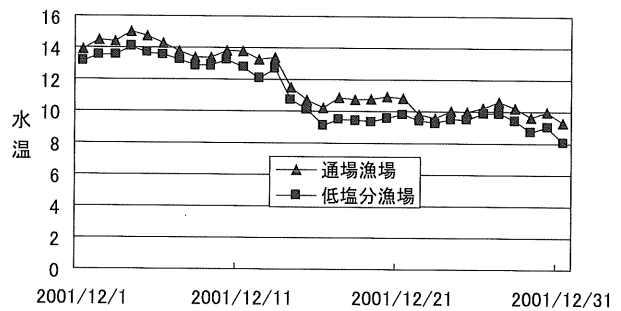


図9 野外養殖試験中の水温変動 (2001年)

た(図6)。

1. 野外養殖試験

図7および図8に'00年の養殖試験中の水温・塩分の変動を示した。通常漁場の平均値は水温12.3°C, 塩分26.5, 低塩分漁場の平均値は11.8°C, 塩分21.0であった。

低塩分漁場ではFA89₅₀₋₅₀株が元株と比較して高生長を示した(図11)。しかし, 通常の漁場では両者に大きな差はみられなかった(図12)。また, 収量については通

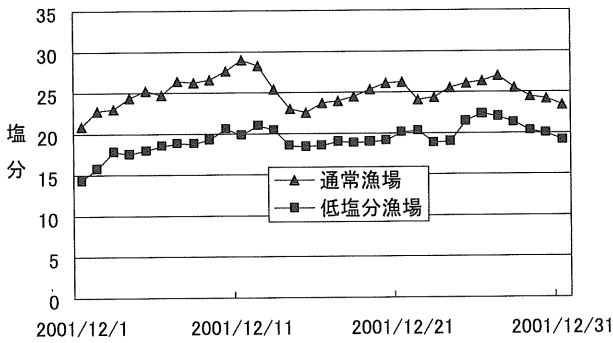


図10 野外養殖試験中の塩分変動 (2001年)

表2 野外養殖試験結果
(上段：1回目摘採，下段：2回目摘採)

株名	等級	生産枚数 (小間あたり)	単価	生産額 (円)
耐性株区	上4	6,800	15.80	107,440
対照株区	上6	7,200	13.50	97,200

株名	等級	生産枚数 (小間あたり)	単価	生産額 (円)
耐性株区	軽3	3,300	11.36	45,945
対照株区	軽4	3,600	10.89	39,204

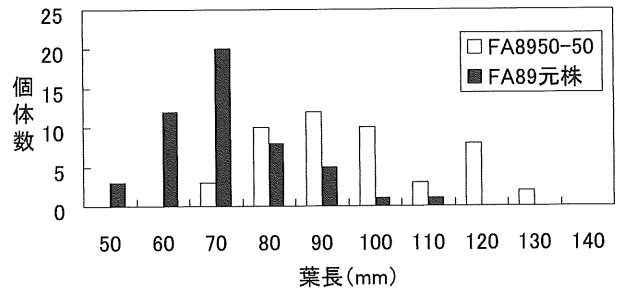


図11 野外試験によるFA89₆₀₋₅₀株および元株の生長 (低塩分漁場)

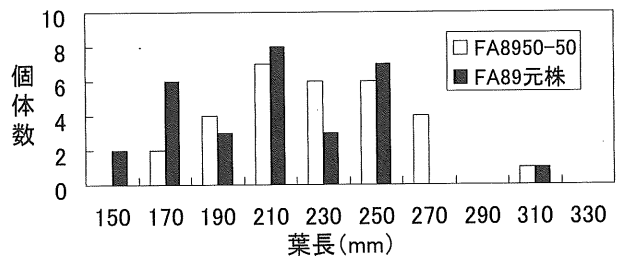


図12 野外試験によるFA89₅₀₋₅₀株および元株の生長 (通常の漁場)

低塩分漁場での野外養殖試験の結果 (表2)，収量については両系統に大差はなかったが，単価は高い傾向を示した。さらに聞き取り調査の結果，「伸びがよい」，「黒みが強い」，「流失がない」，「加工しやすい」など概ね好評を得た。

3. AFLPによるDNAレベルでの差異の検出

FA89₆₀₋₆₀株およびFA89₅₀₋₆₀株それぞれの系統2個体ずつからDNAを抽出してAFLP解析を行い，4プライマーペアで合計109本の増幅断片が認められた。同一系統のAFLPパターンは完全に一致した。低塩分耐性株と元株との間に11本の多型断片が認められた。そのうち最も明瞭な多型バンドはプライマーペアO-Cの194bpとO-Tの73bpの2増幅断片であった (図13)。

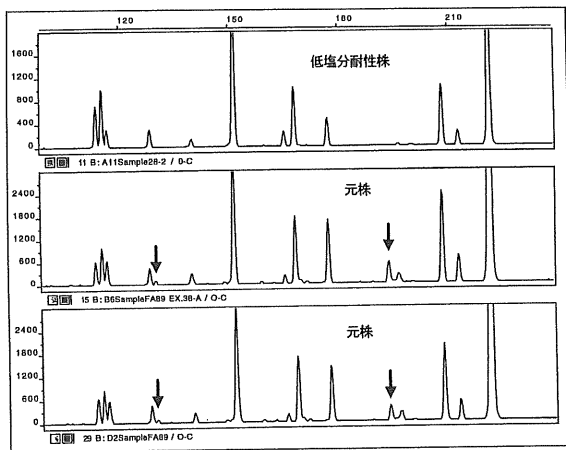


図13 低塩分耐性株と元株のAFLPパターン
プライマーペアはO-G
矢印は元株のみに見られた断片

通常の漁場ではFA89₅₀₋₅₀株が296kg，元株が316kgとほぼ同量であった。

図9および図10に'01年の養殖試験中の水温・塩分の変動を示した。通常漁場の平均値は水温11.9℃，塩分25.1，低塩分漁場の平均値は11.0℃，塩分19.2であった。

考 察

本研究で作出した低塩分耐性株について，その形質が確かなものかを検証するため，数回の室内培養試験を行った。その結果，調べた9株の中からFA89₆₀₋₆₀やFA89₆₀₋₅₀など対照 (元株) と比較して優れた生長を示す株が認められた。これらの株の生長は，100%海水や70%海水の高塩分下では不安定ながら，低塩分下では高

成長を示すことが再試験からも明らかとなった。また、本株について野外養殖試験を行ったところ、通常の漁場では収量に元株との大きな差はなかったが、低塩分漁場では高成長を示した。また、生産者に委託養殖した結果からも、本研究のねらいであった「伸びがよい（収量が多い）」という形質はあまり現れず、「黒みが強い」、「流失がない」、「加工しやすい」などの評価を得た。室内試験で示された伸びの良さが野外試験で現れなかったのは、芽付き密度や病害の発生状況の相違が影響していると考えられる。しかしながら本株が元株と比較して低塩分下で優れた特性を発揮することが明確となった。また、現在、本低塩分耐性株は多くの生産者に普及し、養殖されているが、いずれも好成績をあげている。

さらに本株が遺伝的な変異によって生じたかどうかを確認するため、AFLP法によるDNA解析を試みたところ、耐性株と元株との間に複数の多型バンドを認めることができた。このことは、低塩分耐性は環境適応ではなく、遺伝的な変異によって獲得した形質であることを示唆するものと考えられる。

これらのことを総合すると、プロトプラスト培養系を使って、クローン再生体の中から他とは違う形質を持つ個体を選ぶことによりDNAが変異している個体を効率的に選抜できることが証明された。したがって、多様なスクリーニングを行えば、本法による育種はこれからも応用性が高いであろう。また、種々のマーカーが同定されれば、良い形質が複数固定された品種を作ることも可能と考えられる。

本研究で作出された低塩分耐性株の形質については、特に生長に着目して調査を行った。今後は品種登録などを行うことも見据え、その他の品質に関わる色調やうまみ成分、さらには稔性や温度適応性など基本的な性質についても検討する必要がある。また、DNA解析については他の低塩分耐性株を調査して、今回元株との間に認められた多型断片と共通する断片が存在するかどうかを確認する必要がある。また、DNAマーカーを特定するためには交配実験を行う必要がある。

要 約

- 1) 恒常的に低塩分域である河口漁場を有効利用するため、プロトプラスト再生系を利用して作出された低塩分耐性株について、その形質評価を行った。
- 2) 室内培養試験の結果FA89₆₀₋₆₀株、ついでFA89₆₀₋₅₀株が低塩分下で好生長を示し、低塩分耐性株の候補とした。
- 3) 野外養殖試験の結果、低塩分漁場では低塩分耐性株が元株と比較して高生長を示した。しかし、通常の漁場では両者に収量の大きな差はみられなかった。
- 4) 生産者に委託養殖した結果、本研究のねらいであった「伸びがよい」という性質の他に「黒みが強い」、「流失がない」、「加工しやすい」ど期待以上の評価を得、普及が進んでいる。
- 5) AFLP法によるDNA解析を試みたところ、耐性株と元株との間に複数の多型バンドを認めることができ、低塩分耐性は環境適応ではなく、遺伝的な変異によって獲得した形質であることを示唆するものと考えられた。

文 献

- 1) 藤井直幹：低塩分耐性アマノリ類の作出と遺伝性に関する研究,水産生物育種の効率化基礎技術の開発前期成果,161-165 (2001)
- 2) 岩淵光伸：AFLP法によるノリ養殖品種の識別,福岡県水産海洋技術センター研究報告第13号,21-25 (2003)