

# アマノリ養殖品種の特性

独立行政法人

水産総合研究センター

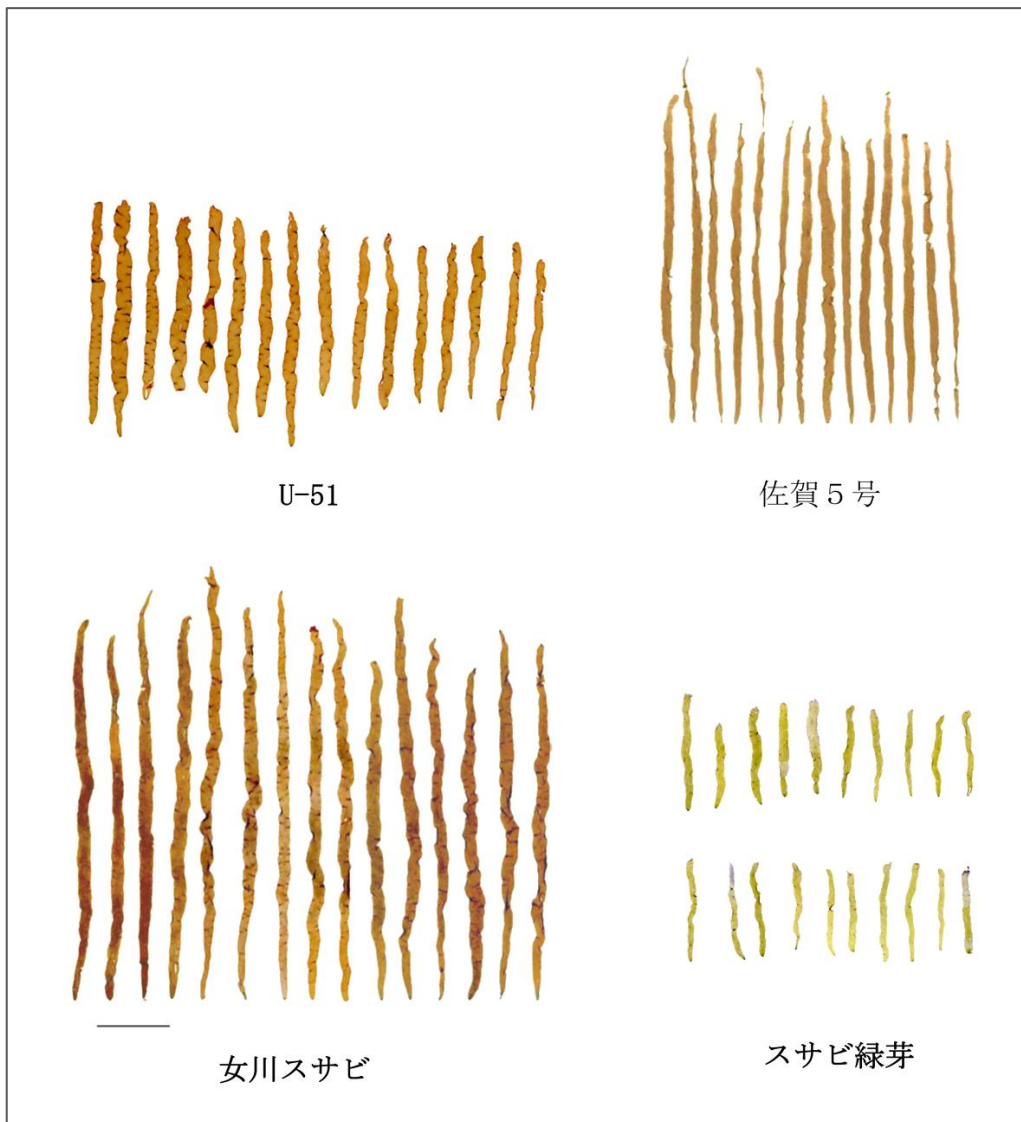
西海区水産研究所





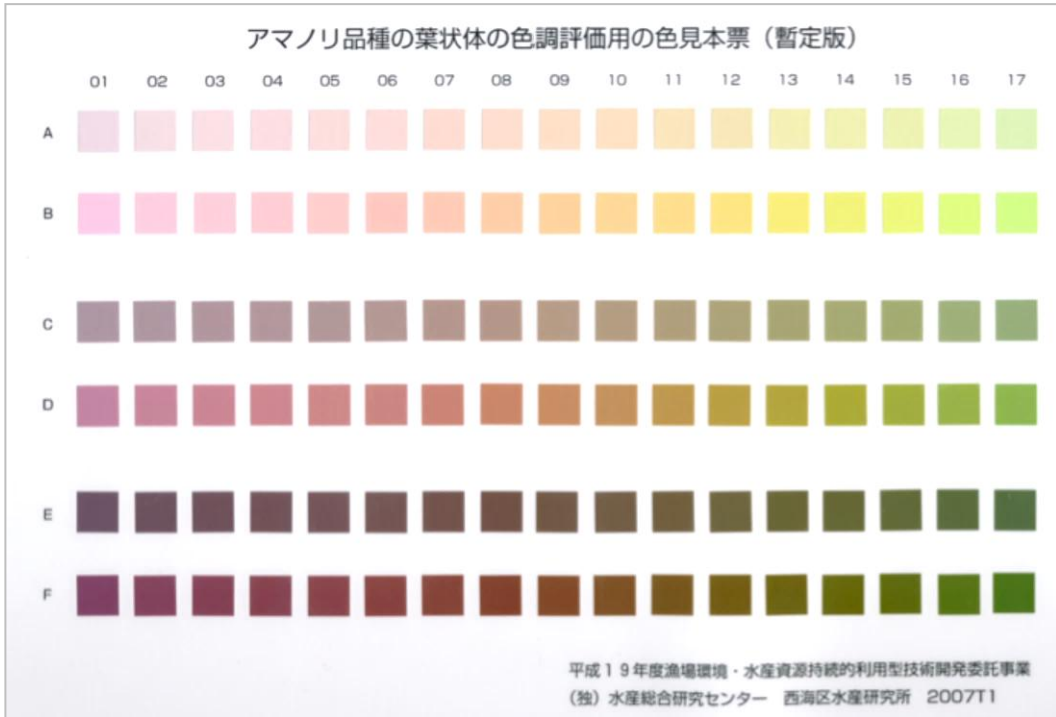
口絵 1-1 アマノリ葉状体の培養  
(3. 室内培養試験)

原則として 10 の藻類培養用枝付きフラスコを用い、通気培養で行った。

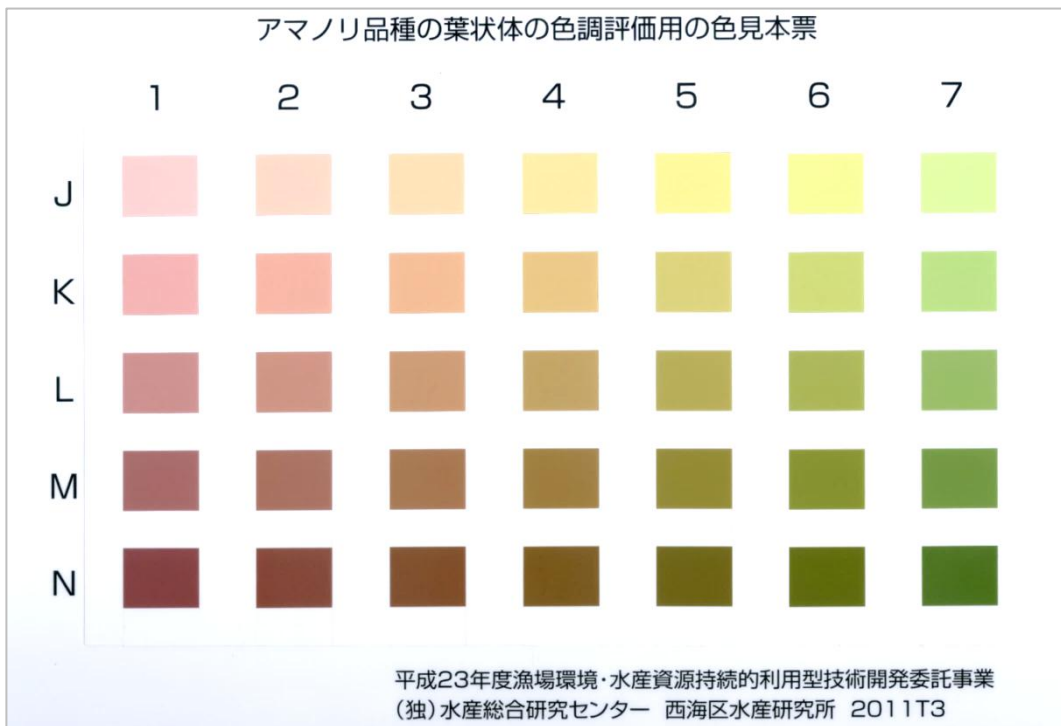


口絵 1-2 培養葉状体 (3-2. 葉長)

培養期間 28 日 (標本)      スケール : 5cm



口絵 2-1 暫定版色見本票（102色，3-3.色調等）

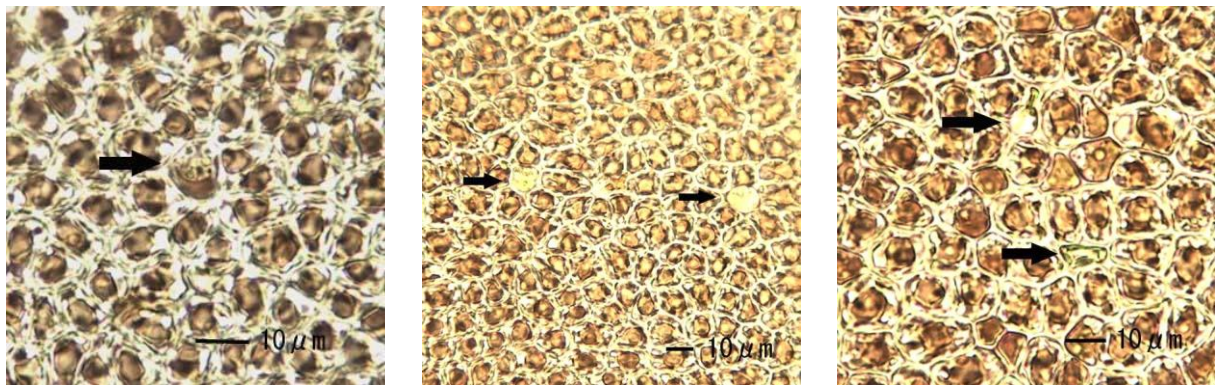


口絵 2-2 改訂版色見本表（35色，3-3.色調等）



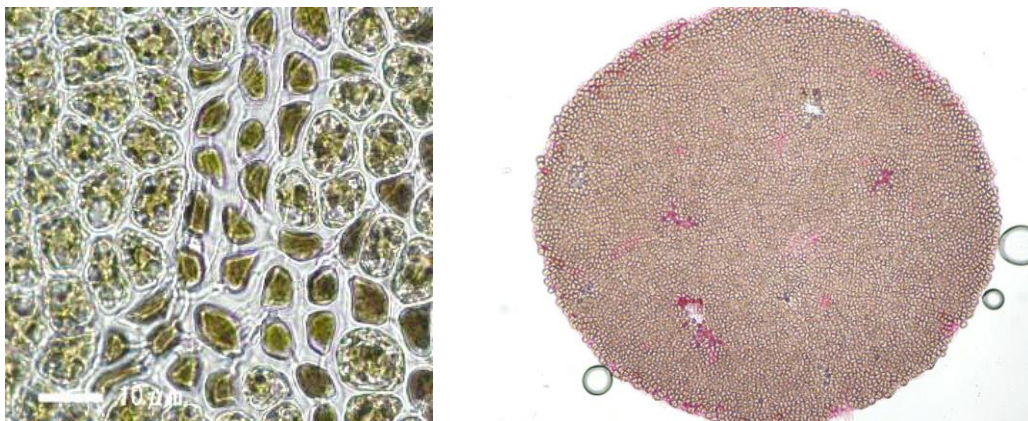
口絵 3-1 低栄養塩条件での培養による色調低下 (3-8. 低栄養塩耐性)

左：供試葉状体. 中央部の穴は材料を 5mm の生検トレパンで打ち抜いたあと.  
 右：低栄養塩条件で 3 日間培養し色調が低下した葉片.



口絵 3-2 壺状菌感染葉状体 (3-9. 壺状菌病耐性)

左：感染初期. 中：感染中期. 右：感染後期. 矢印は感染細胞を示す.



口絵 3-3 あかぐされ病感染葉状体 (3-10. あかぐされ病耐性)

左：菌糸が貫通した細胞が死滅. 右：感染したディスク (直径約 1mm) エリスロシン染色.



口絵 4-1 野外養殖試験風景（4. 野外養殖試験）

上：支柱式養殖（有明海佐賀県漁場） 下：浮き流し式養殖（瀬戸内海岡山県漁場）

上下とも右側の写真は摘採風景



口絵 4-2 水産庁事業成果の普及を目的としたシンポジウムの開催（平成 24 年 9 月 6 日）  
「ノリ養殖品種の特性に関するシンポジウム」一般財団法人海苔増殖振興会との共催で開催。

会場 東京 三会堂ビル 石垣記念ホール

※ 右側の写真は海苔産業情報センター代表 藤井弘治氏撮影

## 「アマノリ養殖品種の特性」刊行に寄せて

現在我が国ノリ養殖業は、輸入割当の拡大による輸入増加、国内需要の伸び悩みによる販売単価の低迷及び漁場環境の悪化により、大変厳しい状況に直面しています。

このため水産庁は、外国産ノリと差別化を図り国際競争力のあるノリ養殖業の育成を図る観点から、優良なノリ品種を開発して品種登録を推進すべく、従来よりも簡便で利便性の高いノリ養殖品種の特性評価法の開発を行うこととしました。このため、平成18年から23年度までの間、「漁場環境・水産資源持続的利用型技術開発事業のうち水産物の原産地判別手法等の技術開発事業」を独立行政法人水産総合研究センター（以下、「水研センター」）及びノリ養殖関係7県の水産関連研究機関に委託して実施いたしました。

その中で、水研センター及び7県の試験研究機関が、これまでの長年の試験研究により蓄積した総力を結集してノリ養殖品種の特性評価手法の開発及び評価結果の数値データ化を行い、それらの結果を水研センター西海区水産研究所が中心となって取りまとめた成果集が本書であります。

詳細については本稿に譲ることとしますが、当該事業で確認された色調、栄養要求性及び耐病性など、種苗法に基づく品種登録の際に求められる形質についての室内培養に関する条件が網羅されているほか、当該事業終了後に得られた最新の知見も収録されております。

今後、本書をノリ産地の生産現場で積極的にご活用いただくことで、優良な新品种の開発と品種登録が一層促進され、ノリ養殖業の振興と発展に貢献することを強く期待します。なお、本書の作成に当たった著者、査読者、編集担当者の皆様の労に対し、紙面を借りて心より謝意を表します。

平成26年 初春

水産庁増殖推進部研究指導課長

遠藤 久

## 執筆・編集者

島田裕至	千葉県水産総合研究センター東京湾漁業研究所研究員
菊地則雄	千葉県立中央博物館分館海の博物館主任上席研究員
落合真哉	愛知県水産試験場主任専門員
石元伸一	愛知県水産試験場内水面漁業研究所三河一宮指導所主任研究員
服部克也	愛知県水産試験場漁業生産研究所主任研究員
山本有司	愛知県水産試験場漁業生産研究所主任研究員
土居内靖子	元愛知県水産試験場漁業生産研究所主任
坂口研一	三重県水産研究所主幹研究員
岩出将英	三重県水産研究所鈴鹿水産研究室研究員
柿沼 誠	三重大学大学院生物資源学研究科准教授
草加耕司	岡山県農林水産総合センター水産研究所資源増殖室専門研究員
林 浩志	岡山県農林水産総合センター水産研究所水圏環境室専門研究員
清水泰子	岡山県農林水産部水産課漁政班主任
藤井直幹	福岡県農林水産部水産局漁業管理課技術主査
漕上 哲	福岡県水産海洋技術センター有明海研究所のり養殖課研究員
三根崇幸	佐賀県農林水産商工本部生産振興部水産課栽培資源担当主査
藤武史行	佐賀県農林水産商工本部生産振興部水産課基盤整備担当副主査
久野勝利	佐賀県玄海水産振興センター副所長
横尾一成	佐賀県有明水産振興センターノリ研究担当係長
山田秀樹	佐賀県有明水産振興センターノリ研究担当技師
松尾竜生	熊本県農林水産部水産局水産振興課漁業調整班 天草不知火海区漁業調整委員会事務局参事
松本聖治	熊本県水産研究センター浅海干潟研究部研究参事
阿部真比古	独立行政法人水産大学校生物生産学科助教
小林正裕*	独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所 水産遺伝子解析センター主幹研究員（西海区水産研究所併任）
里見正隆	独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所 水産物応用開発研究センター衛生管理グループ主任研究員
福井洋平	独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所 水産物応用開発研究センター衛生管理グループ任期付研究員
津崎龍雄	独立行政法人水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所 増養殖部資源増殖グループ主幹研究員
谷津明彦	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 所長
有瀧真人*	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部長
中川雅弘	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部魚介類グループ主任研究員
堀田卓朗	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部魚介類グループ主任研究員
吉田一範	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部魚介類グループ主任研究員
藤吉栄次*	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部藻類グループ主任研究員
玉城泉也*	独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所 資源生産部藻類グループ主任研究員

\* 編集者



## 目 次

はじめに	1
1. 使用品種について	2
2. 種・品種の判別	
2-1. DNAによる判別	5
2-2. 形態による判別	15
3. 室内培養試験	
3-1. 培養条件について	24
3-2. 葉長	29
3-3. 色調	36
3-4. 栄養繁殖性	41
3-5. 遊離アミノ酸含量	46
3-6. 高温耐性	51
3-7. 低塩分耐性	57
3-8. 低栄養塩耐性	64
3-9. 壺状菌病耐性	70
3-10. あかぐされ病耐性	76
3-11. 各特性の区分化（判別基準）	86
4. 野外養殖試験	
4-1. 有明海における支柱式養殖場での特性および環境条件	93
4-2. 瀬戸内海における浮き流し式養殖場での特性および環境条件	106
4-3. 野外養殖法の違いによる結果の比較	117
4-4. 野外養殖試験における色調と呈味成分含量	121
4-5. 野外養殖試験実施要領（資料）	125
5. 関連した知見	
5-1. 陸上水槽での栽培	129
5-2. ノリの発育に関与する細菌の単離と作用機構の解明	134
5-3. 紅藻ウシケノリ目の属の再編	139



## はじめに

近年、我が国のノリ養殖業は、輸入の増大と消費の伸び悩みによる価格低迷が継続し、厳しい状況に置かれている。この状況を乗り切るためには、「高品質のノリを低コストで生産する」研究・技術開発を継続・加速するとともに、それらを現場でいち早く検証してゆく努力がこれまで以上に求められる。高品質高生長のノリ、即ち優良品種の育成は、生産性の向上に直結するとともに、外国産ノリとの差別化をはかるのにも有効であり、上記対策の大きな柱である。農林水産省は、昭和 53 年の種苗法の成立に伴いアマノリ（アサクサノリ、スサビノリ）の品種登録制度を他の水産物に先駆けて整備した。その際、既存品種の特性をまとめた昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書（日本水産資源保護協会 1980）と特性試験法についてまとめた昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書（日本水産資源保護協会 1981）が制作された。しかし、前者は各機関が個別に行った既存調査を集約した内容が中心であり、後者では既存品種等の試験実施例についての記載がないなど、実際に品種の特性評価を行う際に問題が多く、品種試験の際に障害となる場合もあった。

本書は、前述の種苗特性分類調査報告書等を参考としつつ、新たに品種特性調査法を開発し、これを既存品種中心に 20 品種へ適用した結果を中心にまとめたものである。本書の構成は、第 1 に使用品種について、第 2 に DNA を用いた種・品種の判別手法の開発とその手法および既存手法による 20 品種の判別結果、第 3 に新たに開発した室内培養試験による各種特性調査手法を用いて行った 20 品種の評価結果、第 4 に一部の品種を用いた野外養殖試験の結果、第 5 に関連した最新の知見の紹介から構成される。今後さらに解明・開発すべき課題や技術もあるが、本書は全国の主要なノリ関係試験研究機関が力を合わせて新たに開発した統一的手法により 20 品種の特性を調査した結果であり、将来にわたって品種試験の実施や育種素材の選定に大いに貢献するものとする。冒頭述べたように、ノリ養殖をとりまく情勢は依然として厳しいものの、本書が今後のノリ養殖業発展の足がかりとなれば幸いである。

本書は、水産庁事業「漁場環境・水産資源持続的利用型技術開発事業」の「水産物の原産地判別手法等の技術開発委託事業」（平成 18～23 年度）の研究成果を中心に検討を加えたものである。これら事業を採択していただいた水産庁並びに事業実施にあたりご指導ご協力をたまわった関係各位に感謝する。

平成 26 年 初春

独立行政法人 水産総合研究センター

西海区水産研究所長

谷津 明彦

# 1. 使用品種について

藤吉栄次・小林正裕・玉城泉也

昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書では、都道府県の試験研究機関へのアンケート調査の結果に基づき、12 品種を既存品種と認定し、これをもとに各重要形質ごとの標準品種一覧表が作成された。また、各地で品種とみなされているが資料不足等により認定されなかったものおよび選抜不十分の地方種（以下 準既存品種）を「既存品種に準ずるものの特性表」に、アサクサノリとスサビノリ以外の養殖種および国内において養殖されている外国種を「あさくさのり、すさびのり以外の国内産養殖のりおよび外国産養殖のりの特性表」にとりまとめた。

今回の室内培養試験では、アマノリ養殖品種 20 品種（表 1）を用いた。使用品種の選定にあたっては、既存品種を優先した。水産総合研究センター水産生物保存事業において西海区水産研究所で継代培養されている糸状体に加え、元株保存機関等からも糸状体を受け入れた。昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書におけるアンケート調査から約 30 年も経過しているため、既存品種の中には所在が不明のものや、コンタミがひどく今回の試験に用いることができないものもあった。また、予備培養実験の結果、糸状体の長期継代培養の影響（伏屋・中村 1993）等により正常な葉状体がまったく見られないため、使用できない既存品種もあったが、12 既存品種中 8 品種を使用することができた（表 1）。この他に準既存品種は 1 品種、外国種 1 品種、既存品種または準既存品種に該当すると考えられるもの各 1 品種、元登録品種 2 品種、最近開発された新品種 1 品種、その他 5 品種を使用した（表 1）。前述のように、使用品種の糸状体には育成後長い年月が経過しているものが多く、予備培養実験の結果においても葉形のぼらつき等が目立つ品種が多かったため、1990 年以降に単藻化等の作業が確認できない品種については、単藻化または正常な形態をした培養葉状体からの糸状体の取り直しを行った。そのため、昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書等とは特性が多少異なる品種が存在する可能性がある。

次章で詳説するが DNA 判別の結果、今回用いた 20 品種はオオバグリーンだけがアサクサノリで、残り 19 品種がスサビノリであることが判明した。品種名に「アサクサノリ」が入っているアオメアサクサノリ、ミノミアサクサノリ、ユノウラアサクサノリの 3 品種についてもスサビノリであることが明らかになったので、本書ではそれぞれを青芽、水呑、湯の浦と表記し、一般的に野間と呼ばれているノマ 1 号については、野間と表記した（表 1）。野外養殖試験では、初年度はスサビノリ 2 品種（U-51、佐賀 5 号）とアサクサノリ 1 品種（有明 1 号）の組み合わせで試験を実施したが、有明 1 号がスサビノリであることが判明したので、千葉県産原藻から佐賀県有明海漁場用に選抜された佐賀 8 号を有明 1 号に換えて使用することにした。U-51 と佐賀 5 号は過去の試験で生長に違いが見られた品種である（三根ら 2007、藤吉 2007）。

本書の内容は、おもに水産庁委託事業の成果が中心となっているが、この事業より 1 年早く水産庁補助事業として「優良品種確保促進事業（ノリ養殖高度化促進事業）」が開始された。補助事業の最終目標はアマノリ新品種の育成であり、対照品種として U-51 が用いられた。そのため、内容が関連する委託事業においても U-51 を対照品種として用いることになった。U-51 は表 1 のように典型的なナラワスサビノリとして分離されたため、ナラワスサビノリとして標準的な特性を有しているものと考えられ、品種特性を比較する上で実用的な対照品種であると考えられる。このような経緯により、本書においても必要に応じ U-51 を対照品種として用いた。

表1 使用した品種

本書での表記	起源, 履歴など
U-51	千葉県牛込産原藻（ナラワスサビノリ）より東京水産大学（当時）が分離 <sup>*1</sup> . 準既存品種（付）ナラワスサビノリに該当.
アオクビ	有明海福岡県漁場で使用された. 福岡県の試験研究にも使用 <sup>*2</sup> .
青芽	（外国種 アオメアサクサノリ）韓国産原藻より協和発酵が選抜 <sup>*3</sup> .
有明1号	（既存品種）愛媛県玉津産原藻より長崎大学が選抜 <sup>*3</sup> . 福岡県に譲渡.
大牟田1号	瀬戸内海産原藻より福岡県有明水試（当時）が選抜 <sup>*4</sup> .
オオバ グリーン	（既存品種）徳島県内の海産原藻より福岡県有明水試（当時）が選抜 <sup>*3</sup> .
女川スサビ	宮城県女川産原藻（野生）より宮城県水産試験場（当時）が選抜.
熊本漁連3号	千葉県奈良輪産原藻より熊本県のり研究所（当時）が選抜, 熊本県漁連に譲渡.
クロスサビ	長崎大学が分離, 熊本県に譲渡（採集場所不明）.
佐賀1号	（既存品種）福岡県糸島産原藻から佐賀県有明水試（当時）が選抜 <sup>*3</sup> .
佐賀5号	（準既存品種）千葉県奈良輪産原藻より長崎大学が選抜 <sup>*3</sup> , 佐賀県に譲渡.
佐賀8号	千葉県奈良輪産原藻から佐賀県有明水試（当時）が選抜. KN（既存品種ナラワソバ）に該当 <sup>*3</sup> .
しあわせ1号	（元登録品種）広島県水呑産原藻より協和発酵がコルヒチン処理後に選抜.
スサビ緑芽	（元登録品種）千葉県富津市産原藻の緑色区分（キメラ）より東京水産大学（当時）三浦昭雄氏が選抜, 全海苔連が登録.
ZX-1	海苔増殖振興会により新たに育成されたスサビ明赤色型（♀）とスサビ緑芽（♂）の交配株 <sup>*5</sup> .
野間	（既存品種 ノマ1号）愛知県野間産原藻より地元業者が選抜したものを協和発酵がさらに選抜 <sup>*3</sup> .
福岡1号	（既存品種）福岡県有明海産原藻より福岡県有明水試（当時）が選抜 <sup>*3</sup> .
フタマタ スサビノリ	（既存品種）福岡県有明海産原藻より地元業者が選抜 <sup>*3</sup> .
水呑	（既存品種 ミノミアサクサノリ）広島県水呑産原藻より協和発酵が選抜 <sup>*3</sup> .
湯の浦	（既存品種 ユノウラアサクサノリ）熊本県湯の浦産原藻より協和発酵が選抜 <sup>*3</sup> .

\*1 三浦（1983）, 有賀ら（1983）, \*2 岩淵（2003）.

\*3 昭和54年度種苗特性分類調査報告書. \*4 大津（1981）. \*5 森本（2011）.

## 文 献

- 有賀祐勝・田中 洋・田尻純仁（1983）スサビノリフリー糸状体の生長と光合成．海苔増殖振興会会報IV，9-13.
- 岩渕光伸（2003）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，13，21-25.
- 大津 航（1981）選抜育種したノリ品種の特性について．昭和 54 年度福岡県有明水産試験場研究業務報告，1-4.
- 日本水産資源保護協会（1980）昭和 5 4 年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり，すさびのり）．日本水産資源保護協会，東京，173pp.
- 藤吉栄次（2007）ノリ養殖品種 U51 の室内培養試験の結果について．平成 19 年度全国ノリ研究会資料集，p. 9.
- 伏屋 満・中村富夫（1993）遺伝資源収集保存．平成 4 年度愛知県水産試験場業務報告，88.
- 三浦昭雄（1983）外材輸入港の貯木場で使用されている殺虫剤の養殖ノリに及ぼす影響に関する調査研究．海苔増殖振興会会報IV，42-57.
- 三根崇幸・藤武史行・久野勝利（2007）ノリ養殖品種 U51 の野外養殖試験の結果について．平成 19 年度全国ノリ研究会資料集，p. 8.
- 森本 明（2011）おいしい「須磨ノリ」を求めて-品種「暁光」から「ZX-1」まで-．私たちの海苔研究，60，28-38.

## 2. 種・品種の判別

### 2-1. DNA による判別

小林正裕・瀧上 哲・土居内靖子・服部克也・  
石元伸一・玉城泉也・阿部真比古・藤吉栄次

アマノリ類は体構造が比較的単純であるため形態に特徴や差異が少なく、形態による分類が困難である。そのため、形態の違いからアマノリ類の種や品種の判別を行うことは難しい。種の場合、形態による分類の鍵となる形質は雌雄の別、葉形、鋸歯の有無、雌雄細胞の分裂表式の違いなどがある。これらのなかでも、雌雄細胞の分裂表式 (Hus 1902) は種判別に多用されているが、極めて高度な技術と経験が必要であるため正確な分裂表式を求めることが難しいことと、培養実験によって成熟過程を経て推定する必要があるため長い時間が必要である。さらに、多くの養殖品種はスサビノリから派生している可能性が高いため、雌雄細胞の分裂表式を用いても判別することは困難である。

そのため、DNA によって種および品種を判別する技術が求められるようになってきた。特に、産業重要種であるスサビノリとアサクサノリの DNA による種判別技術では、核 DNA 中の ITS 領域および葉緑体 DNA 中の RuBisCo 領域を用いた PCR-RFLP 法による判別技術が開発される (Niwa *et al.* 2006) など多くの知見の集積により、両種を迅速で簡便に判別することができるようになった。そのため、近年付加価値が付くようになったアサクサノリ製品の養殖に向けて、より簡単にアサクサノリを判別できるようになってきた。

一方、品種判別は将来に向けて必要な技術開発であると言える。優良な形質を持った品種を種苗登録した場合、育成者権 (種苗法によって保護される知的財産権) を守るためには、外部形態の違いに乏しいノリ品種を迅速、簡便かつ高精度で判別する技術が必要となる。

しかしながら、種判別においてはスサビノリとアサクサノリ以外のアマノリ類も含めた簡便な種判別法はまだ確立されていなかった。また、品種の遺伝的違いを判別することは、未踏の技術的課題として残っていた。

そこで、本課題では DNA を用いた迅速かつ簡便な種判別法を開発するとともに、既存の養殖品種の遺伝的差異を明らかにし、将来の登録品種の育成者権保護のために品種判別技術開発の検討を行った。

#### 種判別

国内に現存するアマノリ類 (①スサビノリ, ②アサクサノリ, ③ウップルイノリ, ④カイガラアマノリ, ⑤ウタスツノリ, ⑥イチマツノリ, ⑦マルバアマノリ, ⑧オニアマノリ, ⑨ヤブレアマノリ, ⑩ソメワケアマノリ, ⑪マルバアサクサノリ, ⑫ベンテンアマノリ, ⑬チシマクロノリ, ⑭カヤベノリ, ⑮タネガシマアマノリ, ⑯ツクシアマノリの 16 種と外国産 2 種 (⑰ダンシサイ, ⑱ベトナムノリ (*Pyropia vietnamensis*)) の合計 18 種を用いて種判別を行った。

DNA の抽出, PCR 反応, 制限酵素反応および電気泳動は既報に基づいた (阿部ら 2008; Abe *et al.* 2010)。糸状体もしくは葉状体を専用チューブに入れ、チューブの外側から液体窒素で凍結する。

次いで SK ミル (Tokken Inc., Japan) を用いて粉碎した後に, 植物用 DNA 抽出キット ISOPLANT II (NIPPON GENE Co. Ltd., Japan) により全 DNA を抽出した。抽出した DNA を TE バッファに溶解し, 種判別分析用 DNA 溶液とした。

次に, サーマルサイクラーを用いて, ミトコンドリア DNA 中の 2 つの領域の増幅を行った。領域 1 の増幅はフォワードプライマー (mit17BF; GTCAGTTCGAATCTGGCCCTAGTT) とリバースプライマー (mit17R; ATGTGTTAGGCCGACCACTA), 領域 2 の増幅はフォワードプライマー (mit12BF; CGTGTGGCCTGATGTCATAT) とリバースプライマー (mit12CR; GCTCAATGGTCAGAGCATACG) を用いた (Abe *et al.* 2013)。増幅は, 10ng/ $\mu$ l DNA 溶液 1 $\mu$ l, プライマーを各 0.2 $\mu$ l (終濃度; 0.2 $\mu$ M), dNTP 混液 1.6 $\mu$ l (終濃度; 各 0.2mM), 10 $\times$ PCR バッファ 2 $\mu$ l, Takara Ex Taq™ ポリメラーゼ 0.2 $\mu$ l を加えて, 滅菌蒸留水で最終容量を 20 $\mu$ l とした。PCR 反応条件は, まず 97°C 1 分, 続いて 97°C 15 秒, 55°C 30 秒, 72°C 3 分を 35 サイクル, 最後に 72°C 5 分とした。反応終了後, 反応液は 4°C で保存した。

次に, 種特異的な増幅断片を得るために, 上記の反応産物の制限酵素による切断を行った。制限酵素は, 領域 1 においては *Taq* I, 領域 2 においては *Ssp* I, *Aci* I, *Cfr*13 I (*Bmg*T120 I), *Alu* I を用いた。制限酵素反応は, 領域 1 の *Taq* I においては 65°C 60 分, 領域 2 の 4 種類の制限酵素においては 37°C 60 分で行った。制限酵素反応の終了後にストップバッファを加えて混合し, 電気泳動まで 4°C で保存した。

種による制限酵素による断片多型を確認するために, 2%アガロースゲル (TAE バッファ使用) による電気泳動を行った。電気泳動終了後, エチジウムブロマイドで染色しトランスイルミネーターを用いて UV を照射して, 種特異的な増幅断片を確認した。

全 18 種を判別する手順は, 以下の通りである。

1. 領域 1 の増幅産物を制限酵素 *Taq* I で処理した後, 電気泳動を行うと図 1 のようになる。この制限断片の分子量の違いから, ⑥イチマツノリ, ⑦マルバアマノリ, ⑧オニアマノリ, ⑨ヤブレアマノリ, ⑩ソメワケアマノリ, ⑫ベンテンアマノリ, ⑮タネガシマアマノリ, ⑯ツクシアマノリ⑰ダンシサイ, ⑱ベトナムノリ (*Pyropia vietnamensis*) の 10 種の判別が可能である。

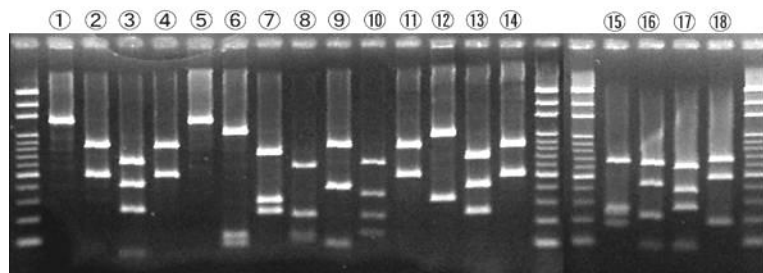


図 1 領域 1 における制限酵素 *Taq* I 処理後の泳動結果



2. 残った8種について、上図の制限断片の分子量の違いから以下の3グループに分けることができる。すなわち、

グループⅠ：①スサビノリ、⑤ウタスツノリ

グループⅡ：②アサクサノリ、④カイガラアマノリ、⑪マルバアサクサノリ、  
⑭カヤベノリ

グループⅢ：③ウップルイノリ、⑬チシマクロノリ

3. 次に、グループⅠの2種（①スサビノリ、⑤ウタスツノリ）およびグループⅡの4種（②アサクサノリ、④カイガラアマノリ、⑪マルバアサクサノリ、⑭カヤベノリ）について、領域2の増幅産物を制限酵素 *Ssp* I で処理した後の電気泳動結果を図2に示す。①と⑤の制限断片の分子量の違いから、グループⅠの両者は判別可能となる。また、グループⅡのうち②アサクサノリが判別可能となる（参考までに、全18種の制限断片の電気泳動結果を示す）。

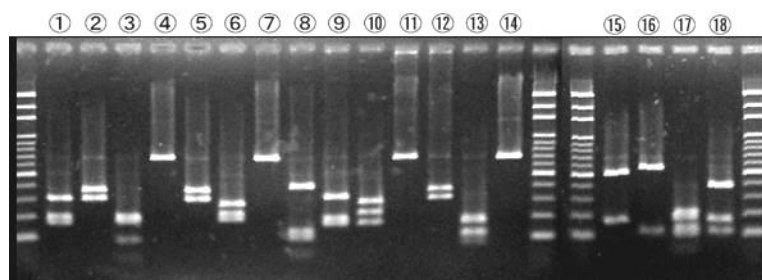


図2 領域2における制限酵素 *Ssp* I 処理後の泳動結果

4. 次に、グループⅡの残り3種（④カイガラアマノリ、⑪マルバアサクサノリ、⑭カヤベノリ）について、領域2の増幅産物を制限酵素 *Aci* I で処理した後の電気泳動結果を図3に示す。3種の制限断片の分子量の違いから、⑪マルバアサクサノリが判別可能となる（参考までに、全18種の制限断片の電気泳動結果を示す）。

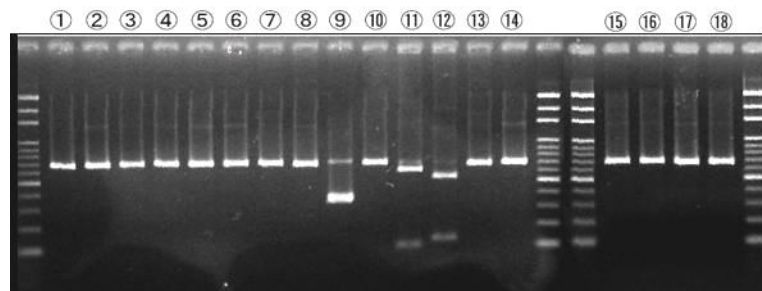


図3 領域2における制限酵素 *Aci* I 処理後の泳動結果

5. さらに、残ったグループⅡの2種（④カイガラアマノリ、⑭カヤベノリ）について、領域2の増幅産物を制限酵素 *Cfr*13 I (*Bmg*T120 I) で処理した後の泳動結果を図4に示す。制限断片の分子量の違いから、両種が判別可能となる（参考までに、全18種の制限断片の電気泳動結果を示す）。

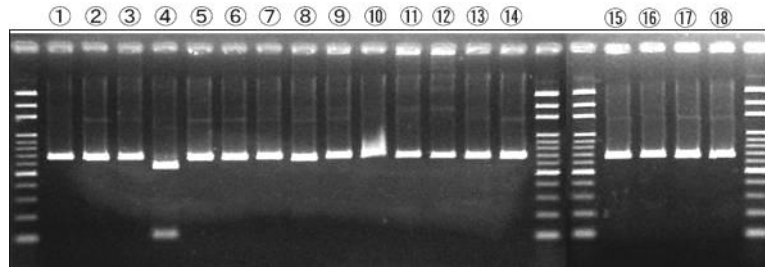


図4 領域2における制限酵素 *Cfr13 I* (*BmgT120 I*) 処理後の泳動結果

6. 次に、グループⅢの2種(③ウップルイノリ, ⑬チシマクロノリ)について、領域2の増幅産物を制限酵素 *Alu I* で処理した後の電気泳動結果を図5に示す。両者の制限断片の分子量の違いから③ウップルイノリと⑬チシマクロノリが判別可能となる(参考までに、全18種の制限断片の電気泳動結果を示す)。

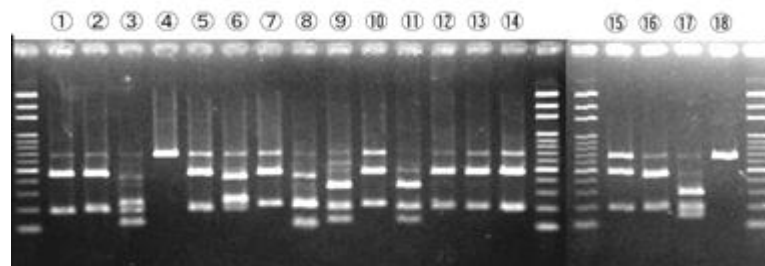


図5 領域2における制限酵素 *Alu I* 処理後の泳動結果

7. 以上の手順により、18種すべてのDNAによる判別が可能となる。

8. 今回使用した20品種の種判別を行った結果、アサクサノリはオオバグリーンのみで他の19品種はすべてスサビノリであった。

### 品 種 判 別

ノリの品種判別技術の開発には、コメの品種判別に用いられた RAPD-STS (Random Amplified Polymorphic DNA-Sequence Tagged Site) 化プライマー法(大坪ら, 2005)を用いた。従来から用いられてきた RAPD 法は多型性が極めて高い反面、再現性に乏しく実験条件により増幅断片の分子量が異なるなど不安定であったため、判別技術としては不適當である。一方、RAPD-STS 化法は RAPD 法によって得られた特異的な増幅断片をクローニング、シーケンシングを経てスクリーニングすることで、特異性を高め安定的な増幅が可能になることから判別技術として活用可能である。

元株保有機関から分与された起源の明らかなノリ68品種(スサビノリ由来55品種、アサクサノリ由来13品種)をさらに西海区水産研究所等において単藻化(ノリ糸状体以外の他の生物を可能な限り除去し、さらにその品種の糸状体の色等を保存している株を選抜すること)し、室内培養した株の糸状体50~100mgからDNAを抽出した。抽出方法は、前述の方法にしたがった(阿部ら2008; Abe *et al.* 2010)。抽出したDNAをテンプレートとして1250種類のRAPDプライマー(RAPD 10mer Kit; Eurofins MWG Operon)でPCRを行い、444個の品種特異的な増幅断片

を得た。RAPD-PCR 時の反応液組成は、10ng/μl DNA 溶液 1μl, RAPD プライマー (10μM) を 1.25μl (終濃度; 0.5 pmol/μl), dNTP 混液 2μl (終濃度; 各 0.2mM), 10×PCR バッファ 2.5μl, Takara Ex Taq<sup>TM</sup> ポリメラーゼ 0.125μl を加えて、滅菌蒸留水で最終容量を 25μl とした。PCR 反応条件は、まず 94°C1 分, 続いて 94°C30 秒, 36°C30 秒, 72°C1 分を 45 サイクル, 最後に 72°C10 分とした。反応終了後, 反応液は 4°C で保存した。増幅産物は, 1×TAE バッファを用いて 1% アガロースゲルにより 100V で約 50 分電気泳動を行い, エチジウムブロマイドで染色後, UV 照射下で品種特異的な増幅断片を探索した。これらの品種特異的な増幅断片を, 電気泳動後に Recochip (Takara Bio Inc.) を用いてアガロースゲルから切り出して精製し, TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen<sup>TM</sup>, Life Technologies Corp.) を用いてクローニングを行い, クローニング産物の塩基配列を決定した。次いで, クローニング産物の塩基配列情報の BLAST 検索を行い, 細菌の塩基配列と相同性の高い配列を細菌由来の増幅断片と見なして以降の解析から除外した。残った品種特異的な増幅断片から品種判別用の 392 組の STS 化プライマーセットを設計した。STS 化プライマーは, 両端の RAPD プライマー配列をできるだけ多く含み, Tm 値 45~65°C, プライマー長 18~22 塩基, GC 含量 30~70% となるように設計した。次に, 全 68 品種について設計したプライマーセットでの PCR 増幅断片の有無を電気泳動により比較し, 73 組のプライマーセットの有効性を確認した。このとき, PCR 反応の成否を検討するために, 2 領域のポジティブコントロールを同時に反応させた。ポジティブコントロール 1 は葉緑体 DNA 中の RuBisCO 領域で, 増幅はフォワードプライマー (rbcLF1; ATGTCTCAATCCGTAGAATCA) とリバースプライマー (rbcSR1938; CTAGCTCCTTCAGGCTT) を用いた (樽田ら 2007)。ポジティブコントロール 2 は種判別で用いたミトコンドリア DNA 中の領域 1 で, 増幅に前述の mit17BF と mit17R を用いた。

次に, 全 68 品種を最少のプライマーセットで判別するために, 全品種で 73 組のプライマーセットを用いた PCR を行い, 増幅断片の有無をプログラム用データに変換し, Minimal Marker プログラム (Fujii *et al.* 2013; [http://www.naro.affrc.go.jp/fruit/contents/genome\\_prg/minimal\\_marker/index.html](http://www.naro.affrc.go.jp/fruit/contents/genome_prg/minimal_marker/index.html)) を用いて, 最少プライマーセットを検索した。その結果, 18 組のプライマーセットを用いることにより 68 品種を判別できることが明らかとなった (表 1)。

表 1 において, + の表示がある箇所が PCR における増幅断片が得られたプライマーセットで, この表を用いることにより, DNA を用いて品種を簡便に判別することが可能となる。

たとえば, 判別したい品種を 18 種類のプライマーセットで PCR による増幅を行うと, 図 6 に示すように左側から 12, 13, 17, 18 番目のプライマーセットで増幅が確認できる。この増幅パターンを表 1 の集計表と照合すると, 上記の 4 種類のプライマーセットだけで増幅されるのは品種 P-5 だけであるから, 図 6 の増幅パターンを持つ品種は P-5 であると判別が可能となる。

表1 68品種 (P-1~P-68) の判別に用いる18種類のプライマーの増幅産物の有無

左からの順番		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
品種	プライマー	SAF-1	SAF-4	SAF-8	SAF-9	SAF-12	SAF-14	SAF-15	SAF-16	SAF-19	SAF-23	SAF-30	SAF-31	SAF-37	SAF-52	SAF-54	SAF-63	SAF-67	SAF-73m
	P-1			+											+				
P-2														+					
P-3						+						+		+					
P-4											+	+		+					+
P-5														+	+				+
P-6		+				+					+			+	+				
P-7											+			+	+			+	+
P-8									+					+					+
P-9									+					+	+			+	+
P-10							+							+					
P-11				+										+					+
P-12			+											+					
P-13											+			+					
P-14												+	+	+	+				
P-15												+	+	+	+				
P-16													+	+					
P-17		+												+	+				+
P-18		+												+	+	+			
P-19														+	+				
P-20		+												+	+	+		+	+
P-21		+												+	+				+
P-22									+					+			+		+
P-23														+					+
P-24		+		+		+					+	+		+					
P-25					+				+					+	+			+	+
P-26											+			+			+		
P-27				+										+		+			+
P-28												+		+				+	+
P-29		+		+										+	+	+		+	+
P-30				+		+								+					+
P-31				+		+								+					
P-32		+												+					
P-33														+	+				
P-34					+									+	+				
P-35							+		+					+					
P-36									+					+					
P-37														+				+	+
P-38														+	+				
P-39		+												+	+			+	
P-40									+					+			+		
P-41							+	+						+					
P-42									+			+	+	+					
P-43		+										+	+	+		+			
P-44		+												+	+		+		
P-45														+	+				+
P-46												+	+	+					
P-47														+	+			+	+
P-48														+	+		+	+	
P-49											+			+					
P-50								+											+
P-51								+						+			+		+
P-52					+			+									+		+
P-53																			+
P-54														+					
P-55									+		+	+	+						
P-56		+				+								+			+	+	
P-57				+		+					+								
P-58						+								+					+
P-59															+				+
P-60			+											+					
P-61						+					+	+	+	+			+	+	
P-62						+								+			+		
P-63		+				+								+			+	+	
P-64						+								+			+	+	
P-65														+	+	+		+	
P-66		+												+	+	+	+	+	
P-67		+		+										+	+			+	+
P-68		+		+										+	+		+	+	+

+:増幅が見られた場合

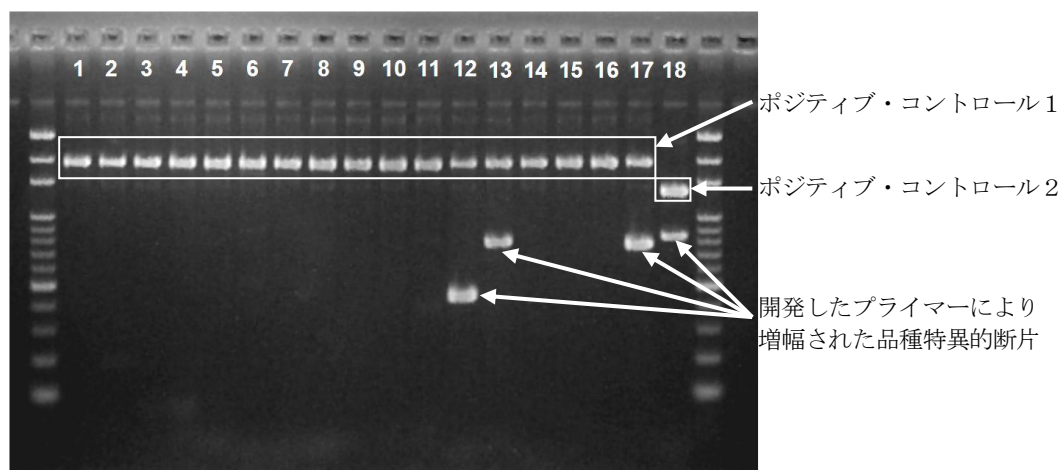


図6 18種類のプライマーセットを用いた増幅断片の有無による品種判別の例

上記の品種判別技術の開発を行った課題は平成20年度に終了したが、室内培養試験によるノリの品種特性評価法の開発は平成23年度まで継続した。この特性評価手法の開発に用いた品種は、第1章「使用品種について」に記載された20品種であるが、DNAによる品種判別技術の開発に用いられた品種はそのうちの13品種だけであったため、残りの7品種を加えた20品種すべてについて品種判別を再度行った。その結果、特性評価に用いた20品種は上記の品種判別技術の折に設計された73組のSTS化プライマーセットのうちの12組のプライマーセットを用いて判別可能であることが判明した(表2)。この場合、用いた品種が異なるため、68品種の時とは使用するSTS化プライマーセットが異なってくる。

表2 特性評価に用いた20品種のDNAによる品種判別の結果

品種	プライマー	SAF-1	SAF-21	SAF-26	SAF-31	SAF-36	SAF-37	SAF-42	SAF-47	SAF-58	SAF-67	SAF-70m	SAF-73m
U-51							+				+		
アオクビ							+					+	+
青芽				+			+						+
有明1号		+					+	+					
大牟田1号			+		+		+						+
オオバグリーン					+								
女川サビ			+				+				+		
熊本漁連3号					+		+		+		+	+	+
クロスサビ		+					+						
佐賀1号						+	+						
佐賀5号							+		+				+
佐賀8号			+	+			+						
しあわせ1号					+		+		+				
スサビ緑芽							+	+	+		+		
ZX-1					+		+	+	+				
野間							+						
福岡1号		+			+	+	+			+	+		+
フタタスサビノリ							+			+			
水呑					+		+		+		+		+
湯の浦							+						+

## 考 察

**種判別** 報告した種判別技術は、ミトコンドリア DNA の 2 領域だけを 5 種類の制限酵素で処理する（領域 1 は 1 酵素，領域 2 は 4 酵素）ことから，迅速で簡便な種判別技術である。さらに，環状 DNA であるミトコンドリア DNA を使用するため，DNA の劣化による判別不能や誤判別が，他の領域を用いた種判別技術よりも少ないと考えられる。しかしながら，ミトコンドリア DNA は核 DNA よりも進化速度が 5～10 倍速いと言われているため，遺伝的差異をより高い感度で検出できることになる。そのため，同一種内でも地理的に隔離された集団間での遺伝的差異を検出してしまふ可能性がある。遺伝的差異の少ない養殖品種等では誤判別は少ないが，天然のアマノリ類を用いた場合は，その多型性を検出してしまい，DNA による種の同定が困難になる場合もあった。このような事例は，他の領域を用いた種判別技術においても見られる。

したがって，DNA による種判別技術はまだ発展途上の技術であり，今後改良の余地の多い技術であることを念頭において活用することが望ましい。いずれ，さらに明確に種を判別できる技術が開発されるであろうが，本技術よりも煩雑な作業を必要とすることが予想される。その意味で，本技術は簡便で予備的な種判別技術としての位置づけで活用すべきであると考えられる。

**品種判別** 報告した品種判別技術は，用いた 68 品種（スサビノリ 55 品種，アサクサノリ 13 品種）を判別するためのプライマーセットであり技術である。しかし，68 品種以外の新たな品種の判別を行いたい場合でも，上記の方法でプライマーごとの PCR 反応による増幅産物の有無を見ることで 68 品種に含まれるか否かが判明する。さらに，開発したプライマーセットは 73 組あるため，68 品種の判別で用いたプライマーセット以外のプライマーがまだ多数残っていることになる。そのため，新たな品種を明確に判別したい場合は，既存 68 品種＋新規 1 品種で 73 組のプライマーで PCR 反応を行い，増幅産物の有無再び Minimal Marker プログラムによって最少のプライマーセットを組み直すことで，理論上は無限に近い品種数を判別することが可能になる。

今回の品種判別技術の問題としては，上述した 68 品種の判別結果と特性評価に用いた 20 品種の判別結果において明らかなように，判別に用いる品種が異なると Minimal Marker プログラムによる最小プライマーセットを推定し直さなければならないという点にある。しかし，前述したように 73 組の候補となる STS 化プライマーセットを開発してあるため，新たに判別したい品種が増えても該当する品種だけを対象に PCR 反応による増幅の有無を確認し，コンピューター上で最も効率的な品種判別プライマーセットを組み直すことによって対応可能である。

他の問題点としては，技術開発を糸状体で行い葉状体での品種判別に活用する予定であったが，葉状体での増幅効率が悪く品種によっては糸状体ほど明確な増幅パターンを示さなかったことにある。さらに，本品種判別技術は複数品種が混在する海苔製品では未検討である。これらの問題点に関しては，今後の検討課題であると考えられる。

しかしながら，近年の DNA 鑑定技術の進歩により，PCR 反応による増幅産物の有無による判別，特に品種判別は望ましくないと指摘されるようになった。そのため，本技術で用いた RAPD-STS 化プライマー法による品種判別技術も，一般的な判別技術ではなくなりつつある。

本課題の終了（2009 年 3 月）とほぼ同時期（2008 年 3 月）に発表された「DNA 品種識別技術の妥当性確認のためのガイドライン—SSR を中心として—（独立行政法人種苗管理センター発行）」においては，品種判別は SSR 法によると明記されており，それ以外の手法による品種判別結果は認めない方向で推移している。ここで，SSR とはマイクロサテライトや STR (Short Tandem

Repeat) とも呼ばれており、ゲノム上に存在する短い反復配列の領域を指している。この反復配列の繰り返しの数に多様性があるため、遺伝子座に存在する対立遺伝子の長さが異なると多型として検出できる。したがって、SSR の領域を PCR で増幅し、その長さを解析することによって反復数の差を検出することが可能となる。品種判別においては、品種の遺伝子型を示す SSR 領域を特異的に増幅するプライマーを用いることにより、品種間の遺伝子型の違いを長さの違いとして検出することができる。

将来的には、ノリの品種判別においても SSR の活用が求められる可能性がある。スサビノリゲノムの解読もほぼ終了したことから、ゲノム中 SSR のような配列の探索も盛んになると考えられる。このような最先端の品種判別技術を開発し活用することで、わが国で開発された新品種の育成者権の保護が進み、それがノリ養殖業の保護・育成につながると考えられる。

他の陸上植物や動物等で活用されている SSR による品種判別技術であるが、2 倍体 (2n) 生物における対立遺伝子の組合せ (遺伝子型) の違いに基づいて判別を行う技術であるため、半数体 (n) であるノリ葉状体では活用できない可能性がある。そのため、ノリの品種判別技術の開発には、他の動植物で用いられている SSR による品種判別技術活用の妥当性を検討するとともに、場合によってはノリの生物学的特性を十分に考慮した新たな技術開発が必要になると考えられる。

## 文 献

- 阿部真比古・小林正裕・玉城泉也・藤吉栄次・菊地則雄 (2008) ATP6 遺伝子に関連したミトコンドリア DNA 部分塩基配列を用いた変種オオバアサクサノリ *Porphyra tenera* var. *tamatsuensis* の判別について (予報) .水産増殖, 56(4), 497-503.
- Abe M., M. Kobayashi, M. Tamaki, E. Fujiyoshi and N. Kikuchi (2010) Rapid discrimination of *Porphyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura by PCR-RFLP. *J Appl Phycol*, 22(4), 405-408.
- Abe, M., M. Kobayashi, E. Fujiyoshi, M. Tamaki, N. Kikuchi and N. Murase (2013) Use of PCR-RFLP for the discrimination of Japanese *Porphyra* and *Pyropia* species (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.*, 25(1), 225-232.
- 大坪研一・中村澄子・雲聡・川上宏智・宮村毅 (2005) PCR 法による米の品種判別のためのプライマーセットの開発. 日本食品科学工学会誌, 52(3), 102-106.
- 樽田真依・黒木敏成・鬼頭鈞 (2007) アマノリ属植物の SSU rRNA 遺伝子と RuBisCO 遺伝子領域の解析による類縁関係の推定と種同定法の開発. 海苔と海藻, 73, 1-42.
- Niwa, K., and Y. Aruga (2006) Identification of currently cultivated *Porphyra* Species by PCR-RFLP analysis. *Fish. Sci.*, 72(1), 143-148.
- Hus, H. T. A. (1902) An account of the species of *Porphyra* found on the Pacific Coast of N. America. *Proc. Calif. Acad. Sci.* III, Botany, 2, 173-240.
- Fujii, H., T. Ogata, T. Shimada, T. Endo, H. Iketani, T. Shimizu, T. Yamamoto and M. Omura (2013) Minimal marker : an algorithm and computer program for the identification of minimal sets of discriminating DNA markers for efficient variety identification. *J. Bioinform. Comput. Biol.* 11(2), on line.

付表1 68品種の判別に用いた18種類のプライマーセット

マーカー名	フォワードプライマーの塩基配列	リバースプライマーの塩基配列	増幅断片長(bp)
SAF-1	ACGGAAGCCCTGTGATAAAAA	ACGGAAGCCCAACGTAGAGT	451
SAF-4	CAGGCCCTTCGTGGTTATAATT	CAGGCCCTTCCCTAAATCCATT	393
SAF-8	TGCCGAGCTGACTTTGAATG	GCCGAGCTGAGGAAAACGTTAT	559
SAF-9	AGTCAGCCACATTACCGCACAA	AGTCAGCCACCACTTTTGGGTA	444
SAF-12	CGCAGTACCAAATAATGCAG	GTGATCGCAGATTCGGTAGTCA	458
SAF-14	AGGTGACCGTAAACAATAACAA	AGGTGACCGTTAGCAGCGAAT	609
SAF-15	GACCGCTTGTGGTTCCAT	GACCGCTTGTGGAGATACAAA	715
SAF-16	GACCGCTTGTGACAGATAAAA	GACCGCTTGTGGAGAGAAA	786
SAF-19	GGACTGGAGTTGATACAATCA	GGACTGGAGTCAGAGAAGAAA	848
SAF-23	GTAGACCCGTATATATTCCAA	GTAGACCCGTCGGACATAGAAA	778
SAF-30	GGAACGGATTGTGCACGACT	GAAACTGGGCCGCAAGTGTATT	529
SAF-31	CCAGATGCACGAATACGTGGAA	CCAGATGCACCACATTCAGC	467
SAF-37	GGCACTGAGGTTCCATGGGT	GGTACTGAGGCAGAAGGATGT	811
SAF-52	CCCAAGGTCCGCAATGAGT	CCCAAGGTCCAGATAGGGAA	775
SAF-54	CCCACCTGATACTGAAACA	CCCACCTGCTAAATCATTT	546
SAF-63	GGGTGCAGTTCAGGATTTT	GGGTGCAGTTCATCAAAGG	1390
SAF-67	CAGCATGGTCTTGTGTGGAGT	CAGCATGGTCACGAAAGGAT	765
SAF-73m	GGACTGCTCGCGACCTGTTA	GGACTGCTCTATTCGTCGAT	843

付表2 特性評価に用いた20品種の判別に用いた12種類のプライマーセット

マーカー名	フォワードプライマーの塩基配列	リバースプライマーの塩基配列	増幅断片長(bp)
SAF-1	ACGGAAGCCCTGTGATAAAAA	ACGGAAGCCCAACGTAGAGT	451
SAF-21	TGCGCCCTTCAGGAAGTT	TGCGCCCTTCGTTATGAG	681
SAF-26	GGAGGGTGTTAGACCTTCGATT	GGAGGGTGTACAGGAGCG	744
SAF-31	CCAGATGCACGAATACGTGGAA	CCAGATGCACCACATTCAGC	467
SAF-36	GGAAGCTTGGACGAGATGTTT	GGAAGCTTGGTCTGATTCTT	562
SAF-37	GGCACTGAGGTTCCATGGGT	GGTACTGAGGCAGAAGGATGT	811
SAF-42	GGGCCGTCTCAAGATCAATAT	GGGCCGTATTCACCATTG	698
SAF-47	GAATCGGCCAGACAATGA	GAATCGGCCACCTGCAGAA	542
SAF58	TCCAACGGCTATGATCTGGAT	TCCAACGGCTGCGTAGTAAAT	961
SAF-67	CAGCATGGTCTTGTGTGGAGT	CAGCATGGTCACGAAAGGAT	765
SAF-70m	CCCAAGGTCCCGACATA	CCCAAGGTCCAACAGCATTTT	976
SAF-73m	GGACTGCTCGCGACCTGTTA	GGACTGCTCTATTCGTCGAT	843

付表3 ポジティブコントロールに用いたプライマー

ポジティブコントロール1		増幅断片長(bp)
フォワード・プライマー(rbcLF1)	ATGTCTCAATCCGTAGAATCA	1938
リバース・プライマー(rbcSR1938)	CTAGCTCCTTCAGGCTT	
ポジティブコントロール2		1341
フォワード・プライマー(mit17BF)	GTCAGTTCGAATCTGGCCCTAGTT	
リバース・プライマー(mit17R)	ATGTGTTAGGCCGACCACTA	



## 2-2. 形態による判別

菊地則雄・藤吉栄次・玉城泉也・小林正裕

紅藻アマノリ類 (Sutherland *et al.* 2011) で示された紅藻ウシケノリ目藻類の葉状の配偶体を持つ属を「アマノリ類」とする) は、広く世界中に分布し、日本からは 29 種が報告されている (吉田・吉永 2010, 菊地 2012)。アマノリ類の分類形質となる主な形態学的、生態学的特徴については表 1 のとおりであり、これらを観察した上で、同定を行う (一部の形質については図 1 に具体的な状態を示した)。

これまで養殖の主対象として用いられてきたアマノリ類は、アサクサノリとスサビノリであり、1970 年代以降はそれらの野生個体を選抜育種した養殖品種 (多くはアサクサノリの変種オオバアサクサノリやスサビノリの分類学上の品種ナラワスサビノリに属する) が使われるようになり (三浦 1996)、近年では、ほぼスサビノリから選抜育種されたナラワスサビノリの系統のみが使用されている (三浦 1994)。

アサクサノリとスサビノリの分類学的特徴を表 2 に示した。オオバアサクサノリとナラワスサビノリについても、後述のごく一部の特徴を除き、それぞれアサクサノリとスサビノリの特徴に一致する。2 種は形態学的には非常に似た特徴を持っており、生活史型も同じであるが、雌雄生殖細胞の分裂表式や造果器の形状、精子囊斑の形状、葉状体の厚みなどで区別が可能であり (三浦 1994)、採集場所が明確で、典型的な特徴を有する葉状体を観察できれば、形態学的、生態学的特徴から判別することができる。しかし、それらの特徴がオーバーラップする個体もかなり見受けられ、見分けが困難な場合がある。特に養殖されたスサビノリ葉状体の場合、本来の生育場所と異なる環境 (比較的波静かなノリ養殖場) で育っているために典型的な特徴が出ていない可能性があることや、ナラワスサビノリなどの養殖品種が、体が大きくなるまで雌雄の成熟が遅れ、生殖細胞の形成量も少ない特徴を持つため (Miura 1984)、雌雄生殖細胞の分裂表式が観察しにくい場合がある。

また、近年、様々なアマノリで DNA 解析が進むにつれ、形態学的、生態学的には同一種と考えられる個体群が、DNA データからはいくつかの種に分けられるというような事例も知られてきた (Niwa *et al.* 2014)。

このように、アマノリでは、形態学的、生態学的特徴のみを観察して種や品種を判別するのは困難な場合もあることがわかってきており、そのため現在では、分子データと合わせた種、品種の判別を行うことが、より正確な判別を行う手段である。

これまで、日本で養殖されている様々な養殖品種については、以前からの伝承や養殖した際の葉状体の色や外形などからスサビノリ系の品種、アサクサノリ系の品種、などと言われていることが多いが、葉状体の形態的特徴を精査して同定した報告はごくわずか (Niwa *et al.* 2004) を除き見当たらない。本報告では、形態学的あるいは生態学的特徴の精査による養殖品種の判別例として、DNA 解析結果から得られた種同定の結果と照らし合わせる形で、各養殖品種の形態的特徴について観察結果を述べる。

### 方 法

アマノリの既存養殖品種 20 品種について、葉状体の培養を行った。培養は温度 18°C、光周期 11 時間明期 13 時間暗期の短日、光量  $60 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  で栄養強化海水 1/2 SWM-III 改変培地 (3-1

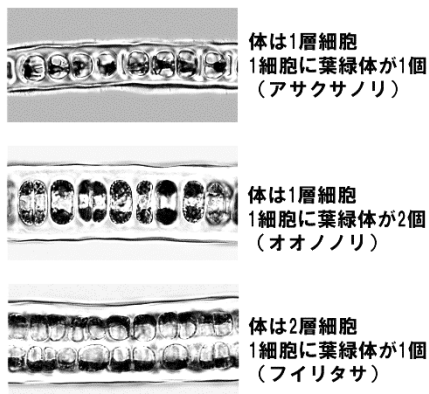
参照)を用いて行った。雌雄生殖細胞の形成が認められた体について、分類形質を中心に、目視及び生物顕微鏡による形態観察を行った。葉状体の切片は両刃カミソリを用いて、徒手にて作製した。雌雄生殖細胞の分裂表式については、種を区別する特徴として重視されてきた(黒木・岩崎 1976)ので、十分に成熟した材料を用いるように努めた。また、殻胞子は発芽して最初伸長方向に一行に細胞分裂し、ある時点で横方向へ分裂する(縦分裂)が、最初の縦分裂が行われたときの伸長方向への細胞数(n数)を計数した。n数は種によって異なるとされている(黒木・岩崎 1976)。

なお、使用した20品種については、DNAによる種の判別結果(2-1を参照)から、オオバグリーンはアサクサノリ、他の19品種はスサビノリと判明しているため、今回の観察ではその結果に沿った形態学的、生態学的特徴が見られるかどうか、確認を行った。

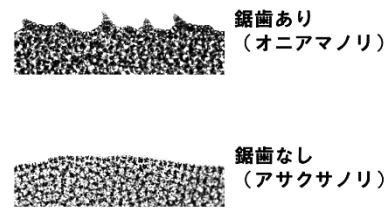
表1 アマノリ類の形態学的、生態学的特徴

形質	状態
葉状体の細胞層	1層, 2層
葉状体の1細胞中の葉緑体の数	1個, 2個
葉状体縁辺部の鋸歯	あり, なし
性のタイプ	雌雄同株(雌雄混在), 雌雄同株(雌雄分離), 雌雄異株(他に, 雄性異株, 三性異株なども報告されている)
雌雄生殖細胞の分裂表式	精子嚢は, $64(a/4, b/4, c/4)$ , $128(a/4, b/4, c/8)$ など 接合胞子嚢は, $8(a/2, b/2, c/2)$ , $16(a/2, b/2, c/4)$ , $32(a/4, b/2, c/4)$ など
葉状体栄養細胞部分の厚み	概ね20-100 $\mu$ m程度で, 種によって主に薄いもの, 厚いもの, 中間的なもの等がある
葉状体の外形	円形, 卵形, 楕円形, 倒披針形, 線形等
葉状体の色彩	赤褐色, 赤みの強いもの, 緑色がかかるもの等
造果器の形状	楕円形, 紡錘形, 受精毛様突起の有無
殻胞子の有無	あり, なし(カイガラアマノリのみ)
葉状体期の原胞子放出の有無	あり, なし
分布	全国的に分布するもの, 限られた地域にのみ分布するもの等
生育環境	主に外海に生育するもの, 内湾に生育するもの等
葉状体の出現季節	晩秋~初春, 夏季, 秋季等
着生基質	岩礁, 木, 合成繊維, 他の海藻等様々なものに付くもの, 限られた種類の海藻に付くもの, 貝殻からのみ出るもの(カイガラアマノリ)等
着生水位	潮間帯上部, 潮間帯下~中部, 漸深帯等

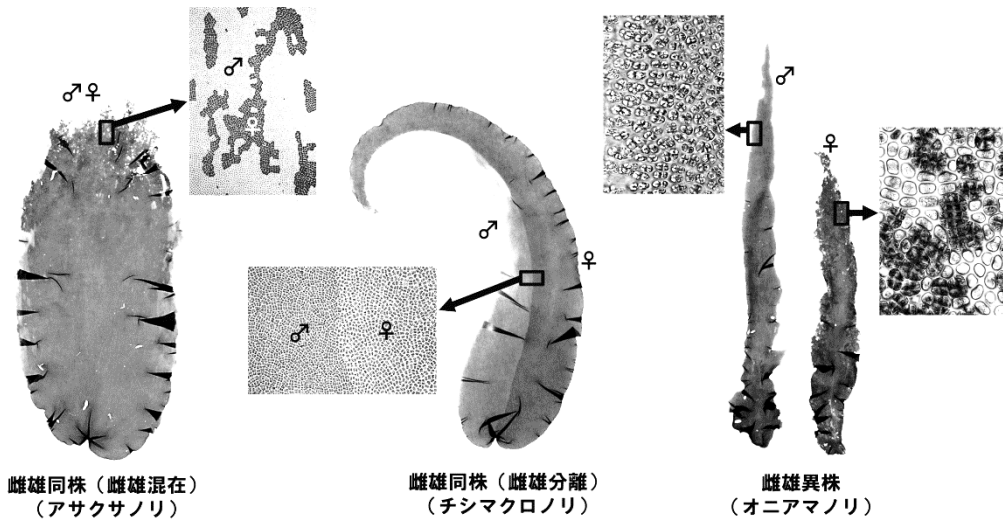
葉状体の層数と葉緑体の数



葉状体縁辺部の鋸歯の有無



性のタイプ



雌雄生殖細胞の分裂表式

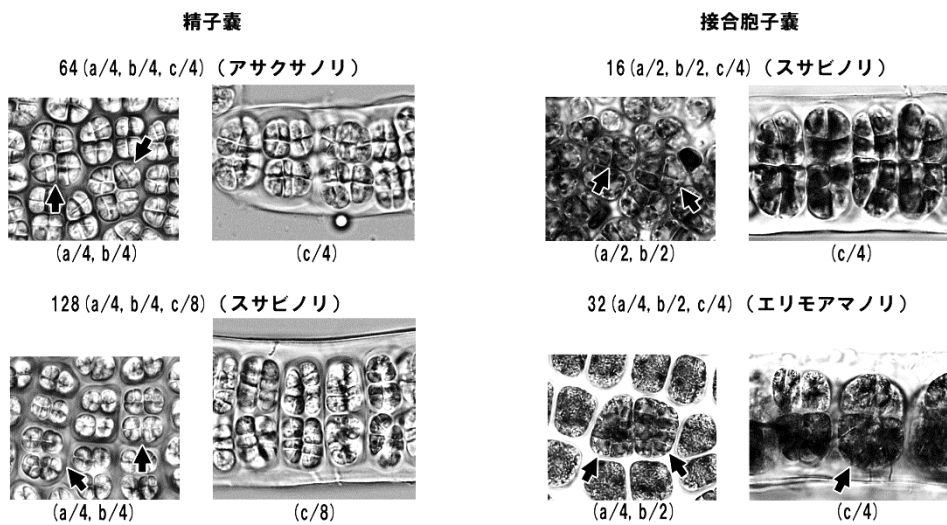


図1 アマノリ類の代表的な分類形質とその状態。

表2 アサクサノリとスサビノリの特徴

形質	アサクサノリ <sup>*1</sup>	スサビノリ <sup>*1</sup>
葉状体の細胞層	1層	1層
葉状体の1細胞中の葉緑体の数	1個	1個
葉状体縁辺部の鋸歯	なし	なし
性のタイプ	雌雄同株（雌雄混在） 雄性異株 <sup>*2</sup>	雌雄同株（雌雄混在） 三性異株 <sup>*3</sup>
精子嚢の分裂表式	64(a/4, b/4, c/4) ときに128(a/4, b/4, c/8)	32-256(a/4, b/2-4, c/4-16)
精子嚢斑の形状	微視的～巨視的な大きさ、 縁辺部に線状、ときに大きな線状	小～大きな線状
接合孢子嚢の分裂表式	4-8(a/2, b/1-2, c/2) まれに16(a/2, b/2, c/4)	4(a/1, b/1, c/4) 4-16(a/2, b/1-2, c/2-4)
葉状体栄養細胞部分の厚み	14-35μm	25-52μm
葉状体の外形	線形、披針形、倒披針形、 楕円形、卵形、円形	長線形、倒披針形、楕円形、卵形、 円形
葉状体の色彩	薄い褐色、全身がやや緑がか った赤褐色	赤褐色で基部が緑がかかる
造果器の形状	円形、楕円形、卵形で、受精 毛様突起はないか鈍形とき に鋭形	楕円形、紡錘形で、受精毛様突 起は鈍形または鋭形
殻胞子の有無	あり	あり
葉状体期の原胞子放出の有無	あり	あり
自然分布	北海道南部から九州、朝鮮半 島、中国	北海道から千葉県北東部まで、 本州日本海岸、朝鮮半島
生育環境	内湾などの河口周辺などの 干潟	外海に面した岩礁域
葉状体の出現季節	晩秋～初春	晩秋～初春、北方地域では初夏 まで
着生基質	岩、石、流木、ヨシ、合成繊 維など	岩礁、石、流木、合成繊維、他 の海藻など
着生水位	潮間帯上部	潮間帯下～中部

<sup>\*1</sup> 殖田 (1932), Tanaka (1952), 黒木 (1961), 福原 (1968), Miura (1984), 三浦 (1994), 菊地・二羽 (2006)を参照.

<sup>\*2</sup> 雌雄同株体と雄性体が見られるとされる (Miura 1988) が、筆者らは未確認.

<sup>\*3</sup> 雌雄同株体と雌雄異株体が見られるとされる (Miura 1988) が、筆者らは未確認.

## 結果および考察

観察を行った 20 品種の葉状体は、全て 1 層細胞で 1 細胞に星状の葉緑体が 1 個あり、縁辺に顕微鏡的な鋸歯はなく、雌雄生殖細胞が 1 枚の葉状体上に混在して形成されるタイプの雌雄同株であった。精子嚢斑は顕微鏡的な大きさから巨視的な大きさまで様々で、形は不定形かやや縦長のものが見られた。葉状体の外形は線形で、一部倒披針形であり、よく生長した葉状体では長さは 40cm 以上となった。また、葉状体から原胞子の放出が認められた。これらの結果から、20 品種はスサビノリもしくはアサクサノリに当てはまると考えられた。

表 3 に、20 品種で見られた雌雄生殖細胞の分裂表式（最も多く分裂した場合）及び殻胞子発芽体の n 数について示した。

表 3 雌雄生殖細胞の分裂表式及び殻胞子発芽体が最初に縦分裂を行うときの細胞数（n 数）

品種名	精子嚢の分裂表式 (最大)	接合胞子嚢の分裂表式 (最大)	n 数
U-51	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-18
スサビ緑芽	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-17
有明 1 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	4-21
大牟田 1 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-34
アオクビ	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-26
オオバグリーン	64(a/4,b/4,c/4)	8(a/2,b/2,c/2) まれに 16(a/2,b/2,c/4)	12-40
佐賀 1 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-15
佐賀 8 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	8-19
クロスサビ	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-20
青芽	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	6-13
佐賀 5 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	4-14
水呑	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	7-16
しあわせ 1 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	3-19
女川スサビ	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	3-16
フタマタスサビノリ	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	8-26
野間	128(a/4,b/4,c/8)	8(a/2,b/2,c/2) 一部 (c/3) を確認	3-17
熊本漁連 3 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	5-20
湯の浦	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	5-21
福岡 1 号	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	4-24
ZX-1	128(a/4,b/4,c/8)	16(a/2,b/2,c/4)	4-20
スサビノリ (参考) *	普通 128(a/4,b/4,c/8) まで ときに 256(a/4,b/4,c/16) まで	16(a/2,b/2,c/4) まで	一般に 6-8, まれに 3-13
アサクサノリ (参考) *	普通 64(a/4,b/4,c/4) ときに 128(a/4,b/4,c/8)	普通 8(a/2,b/2,c/2) まれに 16(a/2,b/2,c/4)	一般に 15-30, まれに 10-37

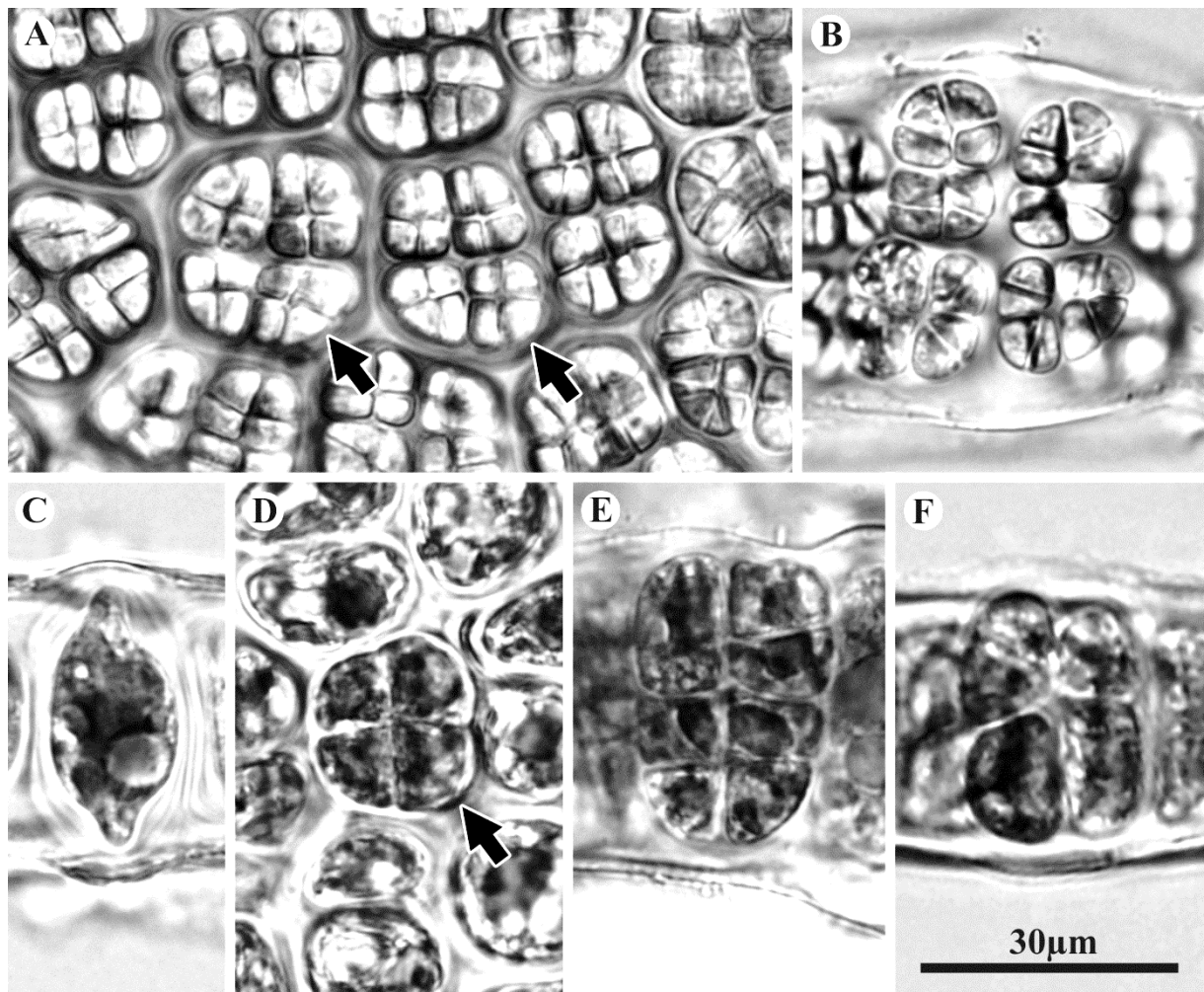


図2 スサビノリ（有明1号と野間）の雌雄生殖細胞.

A-E. 有明1号. A. 精子嚢部分の表面観. 矢印は(a/4,b/4)の分裂を示す. B. 精子嚢部分の断面観. (c/8)の分裂を示す. C. 造果器部分の断面観. 紡錘形で鈍形の受精毛様突起の見られる造果器. D. 接合孢子嚢部分の表面観. 矢印は(a/2,b/2)の分裂を示す. E. 接合孢子嚢部分の断面観. (c/4)の分裂を示す. F. 野間の接合孢子嚢部分の断面観. (c/3)の分裂を示す. スケールは全てFに同じ.

雌雄生殖細胞の分裂表式については、オオバグリーンと野間を除く全ての品種で精子嚢の分裂表式は最大で  $128(a/4, b/4, c/8)$  であり（図 2A, B）、接合孢子嚢のそれは  $16(a/2, b/2, c/4)$  であった（図 2D, E）。また、オオバグリーンの精子嚢の分裂表式は最大で  $64(a/4, b/4, c/4)$  であり（図 3A, B）、接合孢子嚢のそれは  $8(a/2, b/2, c/2)$  が普通に見られ（図 2E, F）、まれに  $16(a/2, b/2, c/4)$  が見られた。また、野間の精子嚢の分裂表式は最大で  $128(a/4, b/4, c/8)$  であり、接合孢子嚢では  $8(a/2, b/2, c/2)$  の他、 $c$  分裂が 3 になった像が見られた（図 2F）。これらの結果から、オオバグリーンと野間を除く 18 品種の特徴はスサビノリと一致し、葉状体の長さが 40cm 以上となることからナラワスサビノリである可能性が高いと考えられた。また、オオバグリーンの特徴はアサクサノリと一致していた。

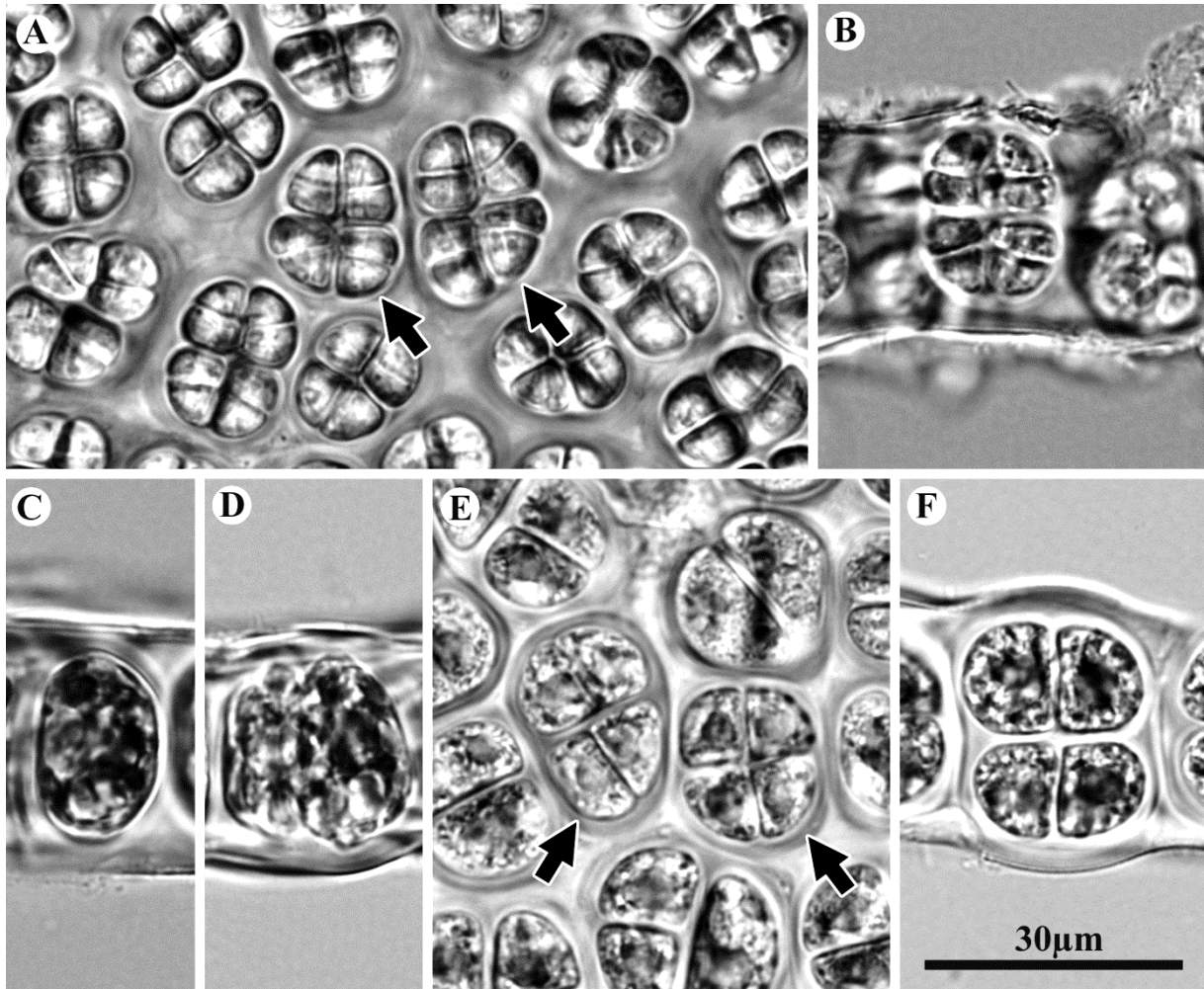


図3 アサクサノリ（オオバグリーン）の雌雄生殖細胞.

A. 精子嚢部分の表面観. 矢印は(a/4,b/4)の分裂を示す. B. 精子嚢部分の断面観. (c/4)の分裂を示す. C, D. 造果器部分の断面観. C. 楕円形で受精毛様突起の見られない造果器. D. 受精毛様突起の見られる造果器. E. 接合胞子嚢部分の表面観. 矢印は(a/2,b/2)の分裂を示す. F. 接合胞子嚢部分の断面観. (c/2)の分裂を示す. スケールは全てFに同じ.

造果器の形態については、オオバグリーンを除く 19 品種の体断面観の造果器の形は紡錘形もしくは楕円形で先端に鋭形もしくは鈍形の受精毛様突起を有し（図 2C）、スサビノリの特徴と一致していた。それに対して、オオバグリーンのそれは楕円形で、ときに鈍形の受精毛様突起が見られ（図 3C, D）、アサクサノリの特徴に一致していた。野間は、接合胞子嚢の分裂数がスサビノリの特徴よりもやや少ないものの、精子嚢の分裂表式及び造果器の特徴はスサビノリと一致しており、成熟が十分に進まなかった葉状体であると推測された。

葉状体の厚みについては、雌雄生殖細胞の形成された体について測定したが、オオバグリーンは 24.6-29.5 $\mu\text{m}$  とアサクサノリに当てはまる厚さだった。他のスサビノリ 19 品種については、24.6~45.9-31.1~55.7 $\mu\text{m}$  とかなりのばらつきが見られたが、ほぼスサビノリの特徴に当てはまっていた。

殻胞子発芽体の  $n$  数については（表 3）、アサクサノリであるオオバグリーンで 12-40、スサ

ビノリである他の 19 品種では、3~8-13~34 であった (図 4)。黒木 (1961) によると、アサクサノリの  $n$  数は一般に 15-30, まれに 10-37, スサビノリのそれは一般に 6-8, まれに 3-13 となっている。今回の結果, オオバグリーンは黒木 (1961) のアサクサノリの結果とほぼ一致したが, スサビノリ 19 品種については, 青芽や佐賀 5 号のように黒木 (1961) のスサビノリの結果とほぼ一致したものがある一方, 大牟田 1 号やアオクビ, フタマタスサビノリのように  $n$  数がアサクサノリに当てはまるほどに大きくなる場合も見られた。しかしスサビノリ 19 品種の  $n$  数は, 全体としては黒木 (1961) の報告したアサクサノリの  $n$  数より小さい傾向が認められた。

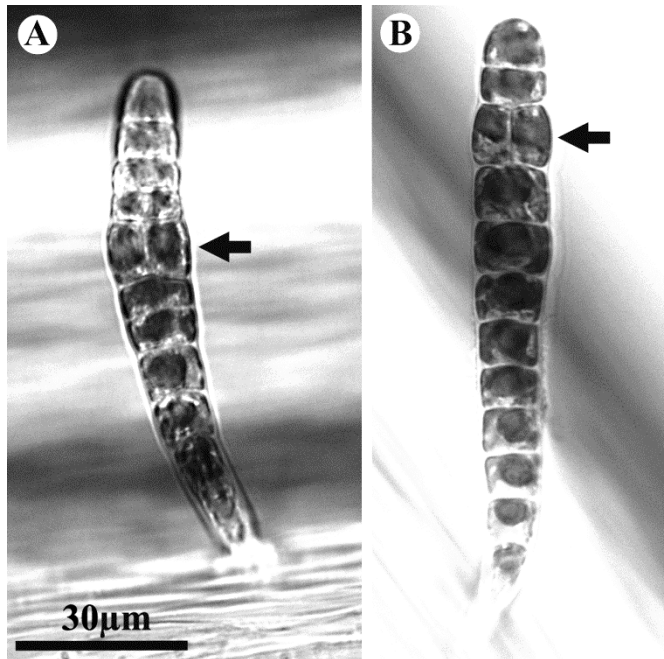


図 4 スサビノリの殻胞子発芽体。矢印は初めて縦分裂を行った部分を示す。A. 女川スサビ. 縦に 10 細胞時なので,  $n$  数は 10. B. アオクビ.  $n$  数は 12. B のスケールは A に同じ。

以上の結果から, 形態学的, 生態学的特徴からのアマノリ養殖の代表的な 2 種すなわちアサクサノリとスサビノリの品種の判別については, 雌雄生殖細胞の分裂表式や造果器の形態などから一応の判別が可能であることがわかった。また,  $n$  数についても, 黒木 (1961) のような明確な違いは認められないものの, アサクサノリに比べてスサビノリ品種では, ある程度小さい値となる傾向があることがわかった。従って, これらの特徴を組み合わせることにより, ある程度の判別が可能となると推測された。

今回の観察結果から, 形態学的, 生態学的特徴を詳細に観察することにより, アサクサノリかスサビノリか, もしくは他の種か, ある程度の判別が可能であり, これらと DNA 解析とを組み合わせることにより, 確実な種・品種判別が可能であると考えられた。今後は, 誰でも比較的容易にかつ効率的に形態学的・生態学的特徴を観察するためのマニュアルの作製や, DNA データと形態・生態データの比較のできる資料の整備などが望まれる。また, より種・品種判別に使用しやすく, かつ比較的観察のしやすい形質の探索も望まれる。



## 文 献

- 殖田三郎 (1932) 日本産あまのり属ノ分類学的研究. 水産講習所研究報告, 28(1), 1-45.
- 菊地則雄 (2012) 紅藻ウシケノリ目の属の再編について. 藻類, 60, 145-148.
- 菊地則雄・二羽恭介 (2006) 東京湾多摩川河口干潟における絶滅危惧種アサクサノリ (紅藻) の生育状況とその形態. 藻類, 54, 149-156.
- 黒木宗尚 (1961) 養殖アマノリの種類とその生活史. 東北水研研究報告, 18, 1-115.
- 黒木宗尚・岩崎英雄 (1976) ノリの生物学的研究. 改訂版浅海完全養殖, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 1-49.
- Sutherland, J. E., S. C. Lindstrom, W. A. Nelson, J. Brodie, M. D. J. Lynch, M. S. Hwang, H.-G. Choi, M. Miyata, N. Kikuchi, M. C. Oliveira, T. Farr, C. Neefus, A. Mols-Mortensen, D. Milstein and K. M. Müller (2011) A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta). J. Phycol., 47, 1131-1151.
- Tanaka, T. (1952) The systematic study of the Japanese Protofloridae. Mem. Fac. Fish. Kagoshima Univ., 2, 1-92.
- Niwa, K., N. Kikuchi, M. S. Hwang, H.-G. Choi, and Y. Aruga (2014) Cryptic species in the *Pyropia yezoensis* complex (Bangiales, Rhodophyta): Sympatric occurrence of two cryptic species even on same rocks. Phycol. Res., 62, 36-43.
- Niwa, K., N. Kikuchi, M. Iwabuchi and Y. Aruga (2004) Morphological and AFLP variation of *Porphyra yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). Phycol. Res., 52, 180-90.
- 福原英司 (1968) 北海道近海産アマノリ属の分類学的ならびに生態学的研究. 北海道区水産研究所研究報告, 34, 40-99.
- Miura, A. (1984) A new variety and a new form of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) from Japan: *Porphyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura, var. nov. and *P. yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura, form. nov. J. Tokyo Univ. Fish., 71, 1-37.
- Miura, A. (1988) Taxonomic studies of *Porphyra* species cultivated in Japan, referring to their transition to the cultivated variety. J. Tokyo Univ. Fish., 75, 311-325.
- 三浦昭雄 (1994) アサクサノリ. 日本の希少な野生水生生物に関する基礎資料(I), 水産庁, 東京, pp. 664-672.
- 三浦昭雄 (1996) 私の海苔栽培技術論. 水産振興, (348), 1-57.
- 吉田忠生・吉永一男 (2010) 日本産海藻目録 (2010年改訂版). 藻類, 58, 69-122.

### 3. 室内培養試験

#### 3-1. 培養条件について

藤吉栄次・小林正裕・玉城泉也

アマノリ葉状体の室内培養についての研究は、1950年代から東海区水産研究所（現 水産総合研究センター中央水産研究所）、電力中央研究所、協和発酵などで開始された。この背景には、当時の主力漁場である東京都漁場が、埋め立てにより急激に消失していった状況がある。その後、1960年代には培養方法が開発され、さらに栄養強化海水に代えてASP-6系の人工海水を用いることで安定した結果が得られるようになり、培養法は確立されたと考えられていた（須藤1960, 1961, 中谷・下茂1962, 寺本・木下1969, 木下・寺本1974）。アマノリの品種登録のための試験要領である昭和55年度種苗特性分類調査報告書では、これらの知見をもとに寺本・木下（1969）の人工海水を一部改変したASP-6系の人工海水を葉状体の培養液として用いることが基準とされた。

阿知波・伏屋（1996）は、スサビノリ葉状体を原胞子から須藤処方のASP-6培地（須藤1960）を用いて培養したところ、生長が悪く、各種栄養強化海水だけでなく無添加の海水を用いて培養した場合と比較しても、葉長および葉幅が小さかったことを報告している。著者らも栄養強化海水を用いると葉状体をうまく育てることができるが、昭和55年度種苗特性分類調査報告書で指定されているASP-6培地では良好な生長はみられなかった（藤吉ら未発表）。寺本・木下（1969）の人工海水では、不純物の含まれる井戸水をベースに使用すると結果が安定するとされているので、何らかの成分が不足している可能性がある。さらに、薬品と蒸留水（純水）の純度向上が影響している可能性もある。阿知波・伏屋（1996）は、さらに3種の人工海水を用いて培養を行っており、結果としていずれの人工海水も栄養強化海水の改変SWM-Ⅲ培地より劣った生長しかみられなかったと報告している。現在までのところ、葉状体の培養に「最適」と言いきれる人工海水は未だ開発されていない状況にある。一方、栄養強化海水は、ベースとなる海水の採水地および採水時季により、生長に大きな違いをおよぼすことが知られており（今田・斉藤1984）、安定した結果が得られない欠点がある。本書ではこれらの状況から栄養強化海水の使用を原則とし、使用する海水の影響が特に大きい葉長、色調、遊離アミノ酸含量、低栄養塩耐性については人工海水を用いることにした。また、その他の培養条件については、殻胞子から培養を行うことを踏まえ、秋芽期の環境条件を考慮して室内培養試験で共通して用いる基本的培養条件を設定した。

#### 温度・日長・光量・塩分・培養方法

**温度・日長** 秋芽期の環境条件を考慮して設定した。温度は18℃とした。幼芽の生長に適した温度（山内1974）で、育苗期の後半から冷凍網の入庫期にあたる三河湾の11月上旬、有明海北部の11月中旬くらいの水温である。日長は11時間明期、13時間暗期とした。育苗期ごろの日長で、西日本における10月下旬から11月上旬くらいの日長である。

**光量** 光源には3波長昼白色蛍光灯を用い、光量は $60\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (平面センサー使用時) とした。試験研究機関の一般的な藻類用培養機器で問題なく設定できる光量である。葉状体の光飽和点は照度では20,000 lx程度とされている(木下・寺本 1958, Ogata and Matsui 1965)が、強光下での培養は生長に阻害が見られるため生長に最適なのは4,000~7,000 lxと考えられている(木下・寺本 1958)。今回用いた光量は換算(古在 1989)すると約4,600 lx相当になり、この最適範囲内にある。

**塩分** 塩分濃度は30 (psu)とした。有明海の中央部大牟田付近の塩分(中川ら 2002)であり、有明海としては平均的な塩分と考えることができる。瀬戸内海等の他の主要養殖海域と比較するとやや低めの塩分となるが、幼芽の生長に適した塩分(山内 1973)であり、培養中の蒸発による塩分濃度の上昇も考慮し設定した。

**培養方法** 1ℓ(1000ml)の球形平底の藻類培養用枝付きフラスコを用いて通気培養することを原則とした(巻頭参照)。通気量は、葉状体が毎分20~30回転するように調整した。初期の生長段階においては、小型の容器や三角フラスコを用いた場合もある。また、実験内容や実施機関の設備等によっては、他の容器を培養に用いた。

## 培 養 液

**栄養強化海水** 栄養強化海水は、SWM-III培地(尾形 1970)から土壌抽出物、肝臓抽出物、Tris、ビタミンを除き濃度を1/2にした1/2SWM-III改変培地(Fujiyoshi and Kikuchi 2006)を用いた。組成は表1に示した。

アマノリ葉状体の培養では、SWM-III培地から土壌抽出物と肝臓抽出物を除いた改変SWM-III培地を用いて良好な生長がみられている(阿知波・伏屋 1996)。水産系の試験研究機関は臨海部に立地することが多いため、培養に際し外気に含まれる海洋細菌等の影響(須藤 1975)を受けがちである。その影響を軽減するため、海水または市販の人工海水をベースとした栄養強化海水を使用するときは、一般的にはビタミンを加えずに培養することが多い(藤井 2009)。ビタミン無添加の改変SWM-III培地については、糸状体の継代培養用として昭和55年度種苗特性分類調査報告書に掲載されている。著者らの所属する西海区水産研究所では、このビタミン無添加の改変SWM-III培地を用いて、糸状体の継代培養と葉状体の培養を行っていたが、糸状体では半量換水時に死滅することが希にみられ、葉状体では幼芽の生長が思わしくない場合がみられた。ビタミン無添加の改変SWM-III培地の組成には、培地として一般的な物質しか含まれていないため、濃度が高すぎる物質が含まれているのではないかと推測された。佐賀県有明水産振興センターでは、幼芽期には必要に応じ濃度を減じたビタミン無添加の改変SWM-III培地を使用している(三根 私信)。また、近年の報告では培養液中に緩衝剤として含まれているTrisがアマノリの幼芽に悪影響を与えることが明らかになった(久野・川村 2004)。これらの知見を踏まえ、西海区水産研究所では水産生物遺伝資源保存事業におけるアマノリ葉状体の培養用に1/2SWM-III改変培地を用いて実験を行っており、その結果良好な生長がみられているので、1/2SWM-III改変培地を室内培養試験用の栄養強化海水とした。なお、ベースとなる海水は冬季に採水したものをを用いることを原則とした。

表 1 培養液の組成

	1/2SWM-III改変	M-ESAW	
海水	1000ml		
蒸留水		1000ml	
NaCl		21.2g	
MgCl <sub>2</sub> ・6H <sub>2</sub> O		9.59g	別記 ビタミン組成 (ビタミン混液 1ml 中) ニコチン酸 2 μg パントテン酸 Ca 2 μg 葉酸 0.1 μg ビオチン 0.01 μg B <sub>12</sub> 0.018 μg
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>		3.55g	
KCl		0.60g	
CaCl <sub>2</sub> ・2H <sub>2</sub> O		1.34g	
Na <sub>2</sub> SiO <sub>3</sub> ・9H <sub>2</sub> O		30mg	
NaHCO <sub>3</sub>		174mg	
HBO <sub>3</sub>	62mg	23mg	
KBr		86mg	
SrCl <sub>2</sub> ・6H <sub>2</sub> O		22mg	
NaF		2.8mg	
NaNO <sub>3</sub>	85mg	47mg	
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ・12H <sub>2</sub> O	18mg		
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ・H <sub>2</sub> O *1		3.1mg	
Mn *2	302 μg	132 μg	
Co *3	589ng	336ng	
Zn *4	26 μg	17 μg	
Se *5		79ng	
Mo *6		584ng	
Fe *7	55.9 μg	55.9 μg	
Cu *8	6ng		
Ni *9		370ng	
Na <sub>2</sub> EDTA	5.6mg	6.1mg	
ビタミン混液 (別記)		1ml	

※ Mn-Na<sub>2</sub>EDTA は 300-1000 倍の金属混液を作成して使用.

**人工海水（合成培地）** 微細藻用に開発された ESAW 培地 (Berges *et al.* 2001) を若干改変（鉄を減量等）した M-ESAW 培地（表 1）を用いた。塩分は約 30 (psu) である。ビタミンについては、アサクサノリの葉状体の生長を促進した、ニコチン酸、パントテン酸、葉酸、ビオチン、ビタミン B<sub>12</sub>（金沢・柏田 1959）を添加した。添加濃度については、前述の海洋細菌等の影響を軽減するため、海水中のビタミン濃度（柏田・金沢 1969）を参考にして、金沢・柏田（1959）が用いた濃度より大幅に減じて用いた（表 1 別記）。

近年、海産微細藻の培養を目的として、海水に類似した基本組成の人工海水 ESAW 培地が開発され、同培地を用いることで良好な微細藻の増殖が得られるとともに、外部形態等についても栄養強化海水を用いた場合と違いが見られないことが明らかになった (Berges *et al.* 2001)。しかし、ESAW 培地は鉄の濃度が  $6.6\mu\text{M}$  で、1/2SWM-III 改変培地の鉄濃度  $1.0\mu\text{M}$  と比較すると非常に高いため、アマノリ葉状体の培養に用いるには高い鉄濃度の影響が懸念された。そこで、ESAW 培地の鉄濃度等を改変した M-ESAW 培地（表 1）を作成し、これを用いて前述の基本的培養条件でスサビノリ佐賀 8 号葉状体を殻孢子から培養した。対照には 1/2SWM-III 改変培地を用いた。その結果、35 日後の平均葉長は、1/2SWM-III 改変培地では 22.1cm であったが、M-ESAW 培地では 28.1cm となった（図 1）。M-ESAW 培地を用いた場合、1/2SWM-III 改変培地よりやや良好な結果が得られたため、人工海水には M-ESAW 培地を用いることにした。

M-ESAW 培地で培養すると安定した良好な生長が期待されるが、1/2SWM-III 改変培地での培養と比較すると一般的に成熟がやや早く、アサクサノリでは原孢子の放出が多い印象を受ける。また、葉色は赤みが強くなる傾向にある。

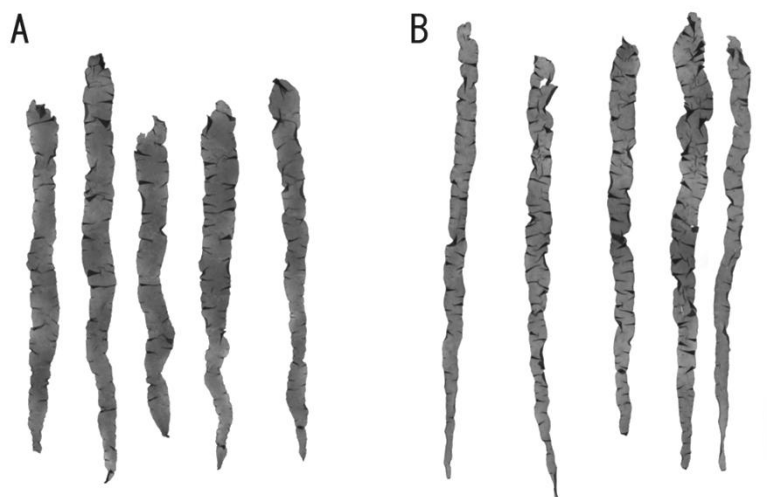


図 1 異なる培養液で培養した葉状体（期間 35 日，品種佐賀 8 号）  
スケール：5cm

A：1/2SWM-III 改変培地，平均葉長 22.1cm

B：M-ESAW 培地，平均葉長 28.1cm

## 文 献

- 阿知波英明・伏屋 満 (1996) 各種培養液でのスサビノリのプロトプラストの再生形態, 成長, 生存および幼芽の成長について. 水産増殖, 44(3), 291-297.
- 今田 克・斉藤祐一 (1984) ノリ葉体の人工培養に用いる海水の特性について. 水産増殖, 32(2), 102-114.
- 尾形英二 (1970) 新しい海藻培養液 SWM-III について. 藻類, 18(3), 171-173.
- Ogata, E. and T. Matsui (1965) Photosynthesis in several marine plants of Japan in relation to carbon dioxide supply, Light and inhibitors. Jap. Journ. Bot., 19(4), 83-98.
- 柏田研一・金沢昭夫 (1969) 生物活性物質/ビタミンを中心として. 海洋科学, 1(4) : 326-331.
- 金沢昭夫・柏田研一 (1959) 藻類の栄養代謝に関する研究-I. アサクサノリの生育に対するアミノ酸及びビタミン類の効果. 鹿児島大学水産学部紀要, 7 : 187-191.
- 木下祝郎・寺本賢一郎 (1958) アサクサノリの光合成に関する二, 三の知見. 藻類, 6(1), 11-15.
- 木下祝郎・寺本賢一郎 (1974) 海苔. 大日本図書, 東京, 138pp.
- 久野勝利・川村嘉応 (2004) ノリ幼芽と植物プランクトン 3 種に及ぼす緩衝剤の影響. 佐賀有明水産振興センター研究報告, 22, 1-7.
- 古在豊樹 (1989) 植物組織培養研究における単位表記. 植物組織培養, 6(1), 38-41.
- 須藤俊造 (1960) アサクサノリの室内培養の方法について. 水産増殖, 7(3), 7-11.
- 須藤俊造 (1961) アサクサノリの大量培養について. 農産加工技術研究会誌, 8(1), 52-59.
- 須藤俊造 (1975) アサクサノリの養殖と培養. 化学と生物, 13(3), 159-165.
- 寺本賢一郎・木下祝郎 (1969) ノリ人工培養の一方法について (1). 藻類, 17(1), 29-33.
- 中川倫寿・森永健司・種子田雄・横内克己・岡村和磨・清本容子・木谷浩三 (2002) 有明海第 1 次モニタリング調査. 陽光丸調査研究報告, 25, 131-133.
- 中谷 茂・下茂 繁 (1962) アサクサノリの人工養殖に関する研究IV. 農電研究所所報, 3, 95-113.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- Berges J., D. J. Franklin and P. J. Harrison (2001) Evolution of an artificial seawater medium : Improvements in enriched seawater, artificial water over the last two decades. J. Phycol. 37:1138-1145. Corrigendum : J. Phycol. 40:619. (2004)
- 藤井直幹 (2009) 水産生物育種の効率化基礎研究技術開発研究 低塩分耐性のアマノリ類の作出と遺伝性に関する研究. 平成 10 年度福岡県水産海洋技術センター事業報告, 192-193.
- Fujiyoshi, E. and Kikuchi, N. (2006) Growth of excised pieces containing elongated denticles from the lower marginal parts of *Porphyra tanegashimensis* and *Porphyra haitanensis* gametophytes. 水研センター報告, 16 : 9-13.
- 山内幸児 (1973) ノリ幼芽の生長におよぼす塩分濃度の影響. 日水誌, 39(5), 489-496.
- 山内幸児 (1974) ノリ幼芽の生長におよぼす温度の影響-I. 日水誌, 40(5), 439-446.

## 3-2. 葉 長

藤吉栄次・玉城泉也・小林正裕

1970年ごろから全国的な普及が始まったナラワササビノリなどの速くよく伸びる多収穫性品種の導入は、生産量の増大に大きな役割を果たしている（三浦 1992, 大房 2001）。柵あたりの生産量は1970年度以前に比べ、1988年度では2倍以上に向上した（三浦 1992, 大房 2001）。このように生長性は、収量の多寡を左右する重要な形質である。しかし、アマノリの品種登録のための試験要領である昭和55年度種苗特性分類調査報告書には、生長性の試験方法が記載されてはいるが、重要形質には含まれていない。また、各既存品種等の特性をアンケート調査で調べた昭和54年度種苗特性分類調査報告書でも、重要形質として最大葉長の項目はあるが、生長性については触れられておらず、「その他の形質」の収量性の項目で間接的に推測できるだけである。そのため、生長性についての指標が実質的には存在せず、高生長を特性として品種登録を申請する場合には障害が生じる懸念がある。

1950年代頃までは天然採苗を主体に行っていたため、様々な形態の葉状体が付着していたが、人工採苗技術とフリー糸状体が実用化されると品種を選んで養殖することが可能になった。葉形の違いは、養殖生産の収量に関わる重要な形質と考え

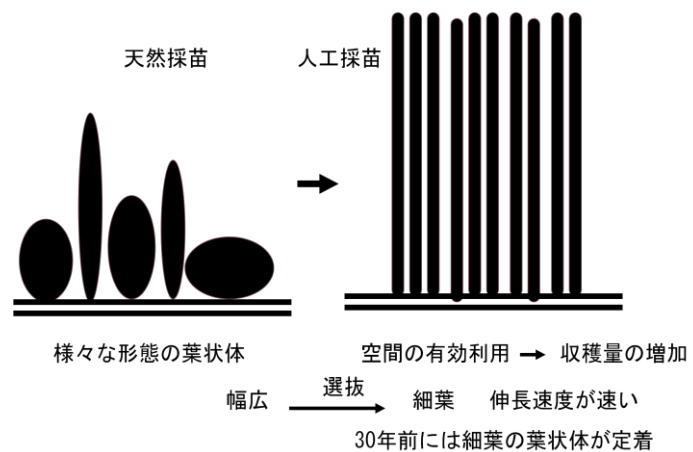


図1 選抜による葉形の変化

られ、オオバアサクサノリと比べて葉形が不均一であったナラワササビノリを中心に、収量の増加を目指し線形の個体が選抜され効果をあげてきた（三浦 1975）。1970年代には細葉でのびの良い品種が主流になり（三浦 1975）、芽付きを調整することにより空間を有効利用し高い生産に結びつけている（図1）。

薄いフィルム状の形態をしたアマノリ葉状体の生長を評価する場合は、面積の増加を指標とするのが一般的であるが、いくら生長が早くてもその多くが葉幅の増加にまわり葉長の増加が遅い個体は、前述の理由で養殖品種としては生長の早い個体とは言えない。本章では、養殖現場の実態に合わせ、葉長を生長性の指標として計測し、品種間の違いを明らかにすることを目的とした。さらに、一般的な生長性についても推定できるように、あわせて葉幅の計測についても行った。

## 方 法

葉状体の培養は、M-ESAW 培地を用い、基本的培養条件（18℃, 光量  $60\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , 光周期 11L:13D）で28日間おこなった。予備実験の結果から、品種によっては培養期間28日程度で葉長が摘採サイズ（15-20cm）に達することが想定されるので、培養期間は28日間とした。実際の養殖でも、採苗後約1か月で摘採が開始されている。培養方法としては、殻胞子を付着させたクレモナ（ビニロン）糸（約3cm）を200mlの培養液とともに三角フラスコ（300ml容）に

入れ、14日間通気培養を行ったのち、枝付きフラスコ（10容）に容器を変更して通気培養した。枝付きフラスコには首まで培養液を入れ、培養液が通気により滑らかに循環するようにした。21日後に葉状体を糸からはずし、28日後に20個体をさく葉標本とし、葉長および葉幅（各個体の最大葉幅）の測定を行った。葉状体へのハンドリングの影響を最小限に止めるため、途中での計測は行わなかった。換水は7日おきに1回全量換水した。培養実験は、実験ごとのばらつきをある程度考慮するため、2回以上に分けて各品種ごとに計4区（容器）で行った。また、最も平均葉長の大きな区と比較し、最も小さな区との平均葉長の差が2倍以内となるように、平均葉長が小さな区については必要に応じ再実験を行った。また、生長の遅い一部の品種を除き、同様な条件で培養した葉長10～25cmの葉状体について葉厚を測定し、結果は参考値として付表2に示した。

三角フラスコ中での通気培養においては、環境条件等により幼芽がバクテリアにまかれて生長が不良となる場合がまれに生じるが、この場合は枝付きフラスコを使用することで改善されることもある。ただし、この時期の枝付きフラスコでの培養は、クレモナ糸が通気口付近で集まってからみあい結果的に生長不良が生じる可能性があるため、使用にあたってはこまめな注意が必要である。7、14日後の換水時には、幼芽の付着密度を考慮しながらクレモナ糸数を検討し、縮れや色落ちが生じないようにする。21日後に糸からはずすときは素早く丁寧にいき、縮れ等の障害の見られない良く育った群からハンドリングの影響等を顧慮し22～24個体を培養継続する。このとき、葉長が約3cm以上ある場合は栄養塩不足による生長の遅滞を避けるため2容器への分割を検討する必要がある。

### 結果および考察

28日後の各品種の葉長、葉幅および葉長幅比、葉長の日間伸長率は表1に、葉長のグラフを図2に示した。また、区（容器）ごとの値については付表1に、28日後の葉長および葉幅から求めた推定面積および推定日間生長率は付表2に参考としてとりまとめた。

28日後の葉長は女川スサビが最も大きく、次いで佐賀1号、佐賀5号の順であり、葉長はそれぞれ平均25.0cm、22.9cm、20.2cmであった。20品種中、13品種は平均葉長が10～20cmの間であった（図2）。葉長の日間伸長率（初期値12μmとしたとき）は、平均葉長25.0cmの女川スサビで42.6%、平均葉長20.2cm佐賀5号では41.6%、平均葉長9.6cm野間では37.8%であり、日間伸長率で見ると多くの品種は37～43%の間に入り比較的近い値を示した（表1）。スサビ緑芽、オオバグリーン、青芽は28日後の葉長が小さく、生長性が劣る結果であった。これら3品種については、糸状体保存のための長期間の継代培養により遺伝的な悪影響が生じている可能性（伏屋・中村 1993）も考えられる。

各品種の葉長幅比（葉長/葉幅）は、生長が不良の前述の3品種を除き、ほとんどの品種が10以上と大きく

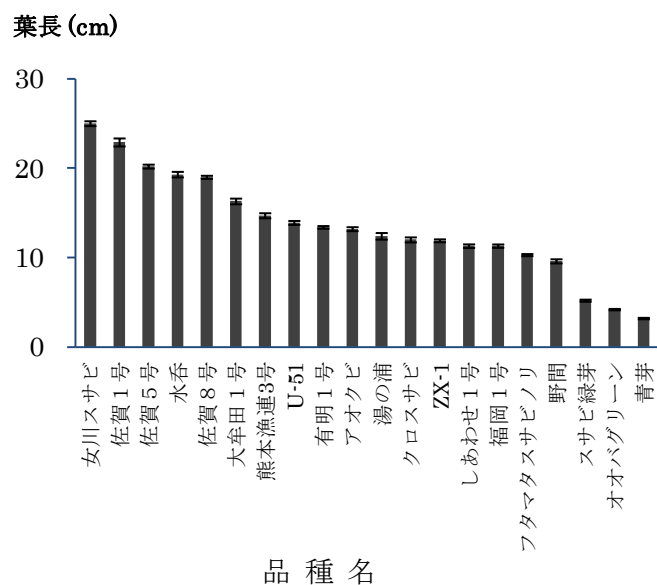


図2 培養28日後の各品種の葉長



(表1), 細葉で伸びの良い品種が選抜されてきた結果ではないかと思われる。昭和54年度種苗特性分類調査報告書では, 成葉の葉形について記載されており, 有明1号は線状披針形・倒披針形, 佐賀5号は線状倒披針形, 野間は線形・倒披針形・線状倒披針形, 福岡1号は倒披針形・線形, フタマタスサビノリは倒披針形・線状倒披針形, 水呑は倒披針形・線状倒披針形・線形, 湯の浦は倒披針形・線状倒披針形となっており, 細葉の葉形を示す場合があることが示されている。今回の結果ではこれらの品種の葉状体はすべて線形を示し(表1), 培養では一般的にやや細葉になることを考慮すると, おおむね一致した結果であると考えられる。また, オオバグリーンについては報告書では線状倒披針形・線形・倒披針形となっており, 今回の結果ではこのうちの最も広葉型の倒披針形と一致し(表1), 前述の7品種とはやや状況が異なった。佐賀1号については, 報告書では倒披針形・倒長卵形となっているが, 今回の結果では線形(表1)となった。原因は不明であるが, 報告書で用いられた材料とは長期間の継代培養(伏屋・中村 1993)や単藻化の過程等で特性に変化が生じた可能性もある。

表1 各品種葉状体の葉長, 葉幅および葉長幅比(28日後)

品種名	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅 ±SE	日間伸長率 (%) *	葉形
U-51	13.9±0.2	1.02±0.02	13.8±0.2	39.7	線形
アオクビ	13.2±0.2	0.96±0.02	14.0±0.3	39.4	線形
青芽	3.2±0.1	0.50±0.01	6.7±0.2	32.5	線形
有明1号	13.4±0.2	0.75±0.01	18.4±0.4	39.5	線形
大牟田1号	16.3±0.3	0.82±0.02	20.5±0.5	40.5	線形
オオバグリーン	4.2±0.1	0.80±0.02	5.7±0.2	33.8	倒披針形
女川ササビ	25.0±0.3	1.11±0.02	23.1±0.5	42.6	線形
熊本漁連3号	14.7±0.3	0.98±0.02	15.8±0.5	40.0	線形
クロスササビ	12.0±0.3	1.25±0.03	9.7±0.2	38.9	線形
佐賀1号	22.9±0.5	0.51±0.01	46.4±1.3	42.2	線形
佐賀5号	20.2±0.2	0.67±0.01	31.0±0.7	41.6	線形
佐賀8号	19.0±0.2	1.14±0.02	17.2±0.3	41.2	線形
しあわせ1号	11.3±0.2	0.79±0.02	14.8±0.4	38.7	線形
ササビ緑芽	5.2±0.2	0.58±0.01	9.1±0.2	34.9	線形
ZX-1	11.9±0.2	1.00±0.01	12.0±0.2	38.9	線形
野間	9.6±0.2	0.88±0.02	11.4±0.5	37.8	線形
福岡1号	11.3±0.2	0.73±0.02	16.2±0.5	38.7	線形
フタマタスサビノリ	10.3±0.1	0.77±0.01	13.7±0.3	38.2	線形
水呑	19.3±0.3	0.70±0.01	28.9±1.0	41.3	線形
湯の浦	12.4±0.4	0.67±0.02	18.8±0.5	39.1	線形

\*初期値12μmとし28日後の平均葉長から求めた値。

今回の実験では, 人工海水のM-ESAW培地を葉状体の培養に用いたが, 28日後の実験終了時には多くの品種で先端部に若干の成熟部が見られ, 栄養強化海水を用いて他の実験用に培養した場合と比較すると, やや成熟が早い印象を受けた。葉状体の伸長が速い佐賀1号では成熟により先端部の流出が見られた。オオバグリーンは今回実験に用いた20品種のうちで唯一アサクサノリであり, 栄養強化海水で培養すると一般的には細葉の形態となる(Niwa *et al.* 2008)が, 今回M-ESAW培地で培養すると先端部から原胞子の放出が多く, 幅広めの倒披針形となった。このような現象はササビノリ系の品種では見られなかった。ササビノリではアラントインの培養液への添加が原胞子の放出を誘導するとされている(Mizuta *et al.* 2003)が, M-ESAW培地には培養液として一般的な成分しか含まれていないため原因の特定はできないが, アサクサノリ系

の品種を培養するときは注意が必要である。

今回の培養実験は人工海水を用いて一定環境条件下で行ったが、区（容器）により葉状体の伸長にかなりの差が見られた。人工海水を用いた過去の事例（今田・斉藤 1984）においても、実験毎に日間生長率の違いが見られている。著者らの研究所は新長崎漁港に面しており、実験室への吸気はフィルターを通してはいるが、外気中の海洋細菌の影響を完全には除くことができない状況にある。実際の培養においても、程度は様々だがときおり細菌による培養液の白濁が見られることがあり、その影響を実感している。アマノリ葉状体の栄養要求については完全には判っていないため、今回用いた M-ESAW 培地を含め人工海水には不十分な面があることに加え、混在する細菌の影響も指摘されており（須藤 1975）、容器内に形成されたフローラの組成が産生物質を介して実験毎の生長に対しかなりの影響を与えているものと推測される。この分野の研究が進展し、安定した結果が得られる方法の開発が望まれる。

## 文 献

- 今田 克・斉藤祐一（1984）ノリ葉体の人工培養に用いる海水の特性につて. 水産増殖, 32(2), 102-114.
- 大房 剛（2001）図説海苔産業の現状と将来. 成山堂, 東京. 223pp.
- 須藤俊造（1975）アサクサノリの養殖と培養. 化学と生物, 13(3), 159-165.
- 日本水産資源保護協会（1980）昭和54年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり, すさびのり）. 日本水産資源保護協会, 東京. 173pp.
- 日本水産資源保護協会（1981）昭和55年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり, すさびのりの栽培試験法）. 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- Niwa, K., H. Furuita, T. Yamamoto and A. Kobiyama（2008）Identification and characterization of a green-type mutant of *Porphyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). Aquaculture, 274, 126-131.
- 伏屋 満・中村富夫（1993）遺伝資源収集保存. 平成4年度愛知県水産試験場業務報告, 88.
- 三浦昭雄（1975）ノリの育種について. 日本水産保護協会月報, 138, 7-16.
- 三浦昭雄（1992）ノリ. 食用藻類の栽培（水産学シリーズ 88）, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 11-24.
- Mizuta, H., H. Yasui and N. Saga（2003）A simple method to mass produce monospores in the thallus of *Porphyra yezoensis* Ueda. J. Appl. Phycol., 15(4), 351-353.

付表1 異なる区(容器)における各品種葉状体の葉長, 葉幅および葉長幅比(28日後)

		U-51			アオクビ		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	15.9±0.3	1.17±0.03	13.8±0.5	14.0±0.4	0.92±0.03	15.6±0.7	
2	13.0±0.5	0.96±0.04	13.7±0.5	14.7±0.4	0.93±0.03	16.1±0.5	
3	12.6±0.3	0.95±0.02	13.5±0.4	12.1±0.4	1.03±0.03	11.8±0.4	
4	13.8±0.2	0.99±0.03	14.1±0.5	12.2±0.4	0.97±0.03	12.7±0.5	
平均	13.9±0.2	1.02±0.02	13.8±0.2	13.2±0.2	0.96±0.02	14.1±0.3	

		青芽			有明1号		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	3.2±0.2	0.49±0.03	6.9±0.3	13.4±0.3	0.73±0.02	18.6±0.6	
2	2.8±0.1	0.55±0.02	5.2±0.2	12.7±0.3	0.68±0.02	18.9±0.6	
3	3.9±0.1	0.45±0.02	9.0±0.4	13.9±0.3	0.84±0.03	16.8±0.7	
4	3.0±0.1	0.52±0.02	5.8±0.2	13.9±0.3	0.74±0.03	19.3±0.9	
平均	3.2±0.1	0.50±0.01	6.7±0.2	13.4±0.2	0.75±0.01	18.4±0.4	

		大傘田1号			オオバグリーン		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	14.9±0.5	0.73±0.02	20.6±0.7	4.3±0.2	0.57±0.03	7.9±0.5	
2	16.7±0.4	0.68±0.02	25.0±0.9	4.0±0.1	0.76±0.03	5.5±0.2	
3	19.3±0.7	1.05±0.03	18.6±0.8	3.8±0.1	0.90±0.04	4.4±0.2	
4	14.5±0.4	0.82±0.02	18.0±0.8	4.7±0.1	0.96±0.03	5.0±0.2	
平均	16.3±0.3	0.82±0.02	20.5±0.5	4.2±0.1	0.80±0.02	5.7±0.2	

		女川スサビ			熊本漁連3号		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	25.8±0.5	0.95±0.02	27.4±0.8	17.2±0.4	0.83±0.02	20.8±0.5	
2	23.6±0.6	1.18±0.03	20.2±0.7	16.2±0.4	0.84±0.03	19.5±0.6	
3	24.2±0.4	1.09±0.03	22.5±0.7	12.8±0.2	1.08±0.03	11.9±0.4	
4	26.5±0.5	1.19±0.03	22.3±0.6	12.7±0.2	1.16±0.03	11.0±0.3	
平均	25.0±0.3	1.10±0.02	23.1±0.5	14.7±0.3	0.98±0.02	15.8±0.5	

		クロスサビ			佐賀1号		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	10.7±0.2	1.13±0.02	9.7±0.3	23.2±0.8	0.49±0.02	49.0±2.3	
2	10.2±0.3	1.12±0.04	9.2±0.4	23.2±0.8	0.46±0.02	51.4±2.4	
3	13.9±0.7	1.33±0.05	10.6±0.5	24.5±1.0	0.65±0.03	39.0±2.5	
4	13.2±0.5	1.44±0.06	9.5±0.6	20.8±0.9	0.46±0.01	46.3±2.5	
平均	12.0±0.3	1.25±0.03	9.7±0.2	22.9±0.5	0.51±0.01	46.4±1.3	

		佐賀5号			佐賀8号		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長/葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長/葉幅±SE	
1	20.4±0.4	0.69±0.03	30.3±1.3	20.3±0.3	1.21±0.02	16.8±0.3	
2	19.0±0.3	0.62±0.02	31.5±1.2	18.5±0.3	1.33±0.03	14.0±0.3	
3	21.8±0.4	0.78±0.02	28.3±1.2	18.7±0.2	0.97±0.02	19.7±0.7	
4	19.6±0.3	0.59±0.02	33.8±1.4	18.7±0.4	1.03±0.04	18.3±0.6	
平均	20.2±0.2	0.67±0.01	31.0±0.7	19.0±0.2	1.14±0.02	17.2±0.3	

		スサビ緑芽			しあわせ1号		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長／葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長／葉幅±SE	
1	6.8±0.1	0.60±0.02	11.6±0.4	12.4±0.4	0.67±0.02	18.6±1.0	
2	5.1±0.1	0.60±0.02	8.6±0.2	11.9±0.4	0.76±0.02	15.7±0.6	
3	4.5±0.1	0.62±0.01	7.3±0.2	10.6±0.4	0.89±0.04	12.1±0.5	
4	4.5±0.1	0.52±0.01	8.8±0.3	10.5±0.3	0.83±0.03	12.6±0.6	
平均	5.2±0.1	0.58±0.01	9.1±0.2	11.3±0.2	0.79±0.02	14.8±0.4	

		ZX-1			野間		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長／葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長／葉幅±SE	
1	11.3±0.3	1.00±0.02	11.3±0.4	10.0±0.2	1.01±0.04	10.2±0.4	
2	11.5±0.4	0.93±0.02	12.4±0.3	7.3±0.2	0.89±0.03	8.3±0.2	
3	13.1±0.3	1.02±0.03	13.1±0.5	9.0±0.3	0.91±0.03	10.1±0.4	
4	11.8±0.3	1.06±0.03	11.2±0.3	11.9±0.3	0.73±0.03	17.1±0.9	
平均	11.9±0.2	1.00±0.01	12.0±0.2	9.6±0.2	0.88±0.02	11.4±0.5	

		福岡1号			フタマタスサビノリ		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長／葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長／葉幅±SE	
1	10.0±0.2	0.66±0.02	15.6±0.7	9.8±0.2	0.87±0.02	11.4±0.4	
2	13.2±0.3	0.74±0.04	18.9±1.2	9.6±0.2	0.83±0.02	11.7±0.3	
3	10.9±0.4	0.81±0.04	14.2±1.0	10.4±0.2	0.67±0.01	15.6±0.4	
4	11.3±0.2	0.72±0.02	15.9±0.6	11.2±0.3	0.70±0.02	16.2±0.5	
平均	11.3±0.2	0.73±0.02	16.2±0.5	10.3±0.1	0.77±0.01	13.7±0.3	

		水呑			湯の浦		
区	葉長±SE (cm)	葉幅±SE (cm)	葉長／葉幅±SE	葉長 (cm) ±SE	葉幅 (cm) ±SE	葉長／葉幅±SE	
1	19.0±0.4	0.65±0.02	29.6±1.1	8.6±0.3	0.52±0.02	16.9±0.8	
2	22.7±0.6	0.60±0.02	39.0±1.9	11.9±0.4	0.75±0.03	16.0±0.6	
3	18.3±0.3	0.82±0.03	23.0±1.0	16.0±0.5	0.76±0.03	21.6±0.9	
4	17.4±0.3	0.74±0.03	24.0±0.9	12.9±0.5	0.66±0.04	20.9±1.3	
平均	19.3±0.3	0.70±0.01	28.9±1.0	12.4±0.4	0.67±0.02	18.8±0.5	

付表2 各品種葉状体の葉厚, 推定面積 (28 日後), 推定日間生長率 (参考値) .

品種名	葉厚 ( $\mu\text{m}$ )	推定面積 <sup>*1</sup> ( $\text{cm}^2$ )	推定日間生長率 <sup>*2</sup> (%)
U-51	21.0	9.2	76.5
アオクビ <sup>*3</sup>	18.1	8.2	75.8
青芽	—	1.0	63.3
有明1号 <sup>*3</sup>	21.0	6.5	74.4
大傘田1号 <sup>*3</sup>	19.8	8.7	76.2
オオバグリーン	—	2.2	67.7
女川スサビ	17.6	18.0	80.8
熊本漁連3号	19.5	9.4	76.6
クロスサビ <sup>*3</sup>	19.9	9.8	76.9
佐賀1号	19.1	7.6	75.3
佐賀5号	17.4	8.8	76.2
佐賀8号 <sup>*3</sup>	18.5	14.1	79.2
しあわせ1号	21.0	5.8	73.6
スサビ緑芽	20.6	2.0	67.0
ZX-1	18.0	7.7	75.4
野間	23.8	5.5	73.3
福岡1号	20.2	5.4	73.2
フタマタスサビノリ	21.3	5.2	72.9
水呑	19.4	8.8	76.2
湯の浦	19.7	5.4	73.2

\*1 昭和55年度種苗特性分類調査報告書の室内栽培試験実施要領の「幼芽・幼葉の生長性」に記載された平均面積の算出法(葉長×葉幅×0.65)を用い, 28日後の平均葉長と葉幅より求めた.

\*2 初期値を直径12 $\mu\text{m}$ の円形の面積とし, 28日後の推定面積から求めた.

\*3 葉厚については, さく葉標本を蒸留水でもどして計測した.

### 3-3. 色 調

玉城泉也・藤吉栄次・小林正裕

ノリ葉状体の色調は板ノリ等への加工後の外観を左右する大きな要因であり、より濃い色調の製品を作るために色調の濃い品種が求められてきた。アマノリの品種登録のための試験要領を記載した昭和55年度種苗特性分類調査報告書では、葉状体の色調について黒紫、赤紫、褐紫、紫褐、青緑、黄緑、緑の7階級の表記が用いられている。これらは野外におけるノリの色調を反映したものであると考えられる。しかし、褐色（明度の低い黄～橙色付近）と紫色は標準色票の色相環において150度以上離れる補色に近い色調であり、色相環上では紫色と褐色の間には赤色があることから、中間的な色調の表現として赤紫色や赤褐色はあっても褐紫色や紫褐色という表現は適切ではない。また、上述7階級の色調の定義についても示されておらず、葉状体の色調として重要な濃淡（明度）に相当する判別基準も存在しない。また、JIS Z 8721 準拠標準色票（日本規格協会・日本色彩研究所 1977）による表記も可能としているが、2141色もの色調を含む標準色票を用いて色調を評価する手法も実用的とはいえない。そこで、葉状体の色調を簡便に把握し、品種特性評価のための特性表作成に資するため、人工海水を用いて室内培養を行い、各品種の色調を統一条件下で比較するために、色調に関しては色相および明度による区分を行うための色見本票を作成するとともに、色彩色差計を用いては葉状体の色調をマンセル表色系およびL\*a\*b\*表色系により計測した。

#### 方 法

**葉状体の培養** 人工海水 M-ESAW 培地を用いて基本的培養条件で培養を行った。アマノリ葉状体各品種の殻胞子を付着させたクレモナ（ビニロン）単糸を300ml容三角フラスコに入れ、14日間通気培養を行った後、1ℓ容の枝付きフラスコに容器を変更し、各種機器による色調の計測が可能となる葉長15cm、葉幅8mmに達するまで14日間以上通気培養した。また、21日目の換水時には葉状体を糸から外し、形態が正常でよく生長したものを10枚選抜して1ℓ容の枝付きフラスコで培養を継続した。栄養塩類が減少し葉状体の色調が変化するのを避けるため、換水は最初の3週間は7日毎に、その後は3～4日毎に随時実施した。培養実験は各品種4区（容器）で行い、各容器から葉状体5枚ずつを選び、色調計測に供した。

**色見本票の作成と計測** 過去の室内培養試験や野外で採集した岩ノリなどの葉状体のさく葉標本をJIS Z 8721 準拠標準色票を用いて調べたところ、色相においては5RPの赤紫色から5GYまでの黄緑色の広範囲に分布していたことから、暫定版色見本票において網羅する色相は5RPから5GYまでの範囲とし、2.5刻みで17段階とした。同様に明度と彩度についても調べ、明度については3段階（2刻みで4, 6, 8）、彩度は2段階（3, 6）として、全102色の暫定版色見本票（巻頭参照）を作成し、各品種の葉状体の色調の計測に供した。

また、野外での色見本票の利用を考え、養殖漁場で採取した葉状体の色調を調べたところ、色相および彩度の区分はそれぞれ7段階、1段階で十分であるものの、明度の区分については、葉状体の色落ちの程度を把握するためには3段階の刻みでは不十分で、上限値と下限値はそのままとして細分化する必要があることが判明したため、色相7段階（5刻みで5Rの赤色から5GYまでの黄緑色）、明度5段階（1刻みで4, 5, 6, 7, 8）、彩度1段階（5のみ）の全35色の改訂版色見本票（巻頭参照）を作成した。

**色彩色差計による計測** 各品種の葉状体中央部を白色板上に広げ、CR-410（コニカミノルタ（株））を用いて、マンセル表色系の色相、明度及び彩度と、 $L^*a^*b^*$ 表色系の $L^*$ 、 $a^*$ 及び $b^*$ の計測を行った。各品種の計測値についての有意差の検定は、色相の計測値のみについて Huse and Kelly (1984)に従い、R, YR, Y 系列の計測値にそれぞれ 0, 10, 20 を加算し数値化した値を、その他の計測項目についてはそのまま用いて、Tukey の方法による平均値の多重比較を行った。

### 結果および考察

暫定版色見本票および改訂版色見本票による色調計測では、淡緑褐色のスサビ緑芽（暫定版 D-13, 改訂版 L-5）、淡褐色のオオバグリーン（暫定版 D-09 および D-10, 改訂版 L-3）の 2 品種が、赤褐色を呈する他の 18 品種（暫定版 F-07 および F-08, 改訂版 M-2）と明瞭に区別されることが示された（図 1）。

色彩色差計による計測結果のうち、色相では淡緑褐色のスサビ緑芽、淡褐色のオオバグリーンの 2 品種は赤褐色を呈する他の 18 品種と明瞭に区別されることが示された（図 2）。赤褐色を呈する 18 品種間の違いは小さく、最も紫寄りの色調を呈した ZX-1 (8.58R) と最も緑寄りの色調を呈したアオクビ (1.71YR) で 3.13 となり、全体の変動（約 15）の 2 割程度であった。明度ではスサビ緑芽とオオバグリーンは 6 近くに、赤褐色を呈する 18 品種は 5 付近にそれぞれ集中し、スサビ緑芽及びオオバグリーンと、赤褐色を呈する 18 品種の 2 群は、明度においても 5%水準で平均値に有意差が認められた。彩度については 3~4 の範囲に概ね集中し、明瞭な傾向を見出すことは出来なかった。

$L^*$ 値の計測結果は明度のそれと概ね同等に、スサビ緑芽とオオバグリーンは 60 近くに、赤褐色を呈する 18 品種は 45~55 付近にそれぞれ集中し、スサビ緑芽及びオオバグリーンと、赤褐色を呈する 18 品種の 2 群は、 $L^*$ 値においても有意差が認められた。赤~緑方向の色調の違いを示す  $a^*$ 値ではスサビ緑芽が緑色に近い負の値を示し、オオバグリーンが 7 前後、赤褐色を呈する 18 品種は 10 以上の赤色を示し、スサビ緑芽は赤褐色を呈する 18 品種と、オオバグリーンは赤褐色を呈する 18 品種のうち青芽を除く 17 品種との間で平均値に有意差が認められた。また、青~黄方向の色調の違いを示す  $b^*$ 値については、スサビ緑芽及びオオバグリーンは 17~18、赤褐色を呈する 18 品種は 10~15 前後となり、スサビ緑芽及びオオバグリーンと、赤褐色を呈する 18 品種の 2 群は、 $b^*$ 値においても有意差が認められた。

今回の手法ではスサビ緑芽とオオバグリーンを除く、赤褐色の 18 品種を識別することは困難である。これは、色相・明度ともに同一品種内の各葉状体間の値のばらつきに比べて品種間の平均値の差が小さいことに起因する。また、色調の濃い品種の開発を目指して漁場等における選抜が重ねられた結果、これらの品種が開発されたことを示しているとも言える。色調をさらに細かく区分した階級分けを行うことも可能ではあるが、特に明度の小さい色調の範囲においては色相の違いを識別し難くなることもあり (Luo *et al.* 2001)、これ以上細分化することは測定者による測定値のばらつきを招くとともに、品種内の測定値のばらつきを拾うおそれもあることから、実用上の意味は小さいと考えられる。

農林水産省の登録出願品種審査要領においては、国際的な基準に基づいて客観的かつ簡便に色調評価を行うため、英国王立園芸協会の RHS カラーチャート (Royal Horticultural Society 1966) の使用が推奨されている (農林水産省生産局知的財産課 2009)。このカラーチャートは、赤紫~青などの 12 系統の色に分けた上で、同系統色のうち 4 色を同一カードへ印刷し、色調比較を容易にするための配慮がなされているが、顕花植物の花弁の色調の識別に特化しているため、花弁に多くみられる色調を網羅するために明るい色調の範囲について特に細分化されてい

るものの、ノリの葉状体にみられるような暗い色調の範囲に該当する色票が少ない。また、色の系統区分が JIS Z 8721 準拠のマンセル表色系の色相・明度・彩度や ISO 11664 の L\*a\*b\*色空間に基づいておらず、同一カードにまとめられた同系色の4色の色相が均等ではなく、統計処理が難しいとの指摘がある (Huse and Kelly 1984, Lootens *et al.* 2007)。このため本章では、色調比較と統計処理を容易に行えるようにするために、マンセル表色系の色相・明度・彩度と L\*a\*b\*表色系の計測値を用いて各品種の比較を行った。また、各種農産物の品種登録における利用例との比較を容易に行えるよう、全35色からなる改訂版色見本票の各色について、RHS カラーチャート上で最も近い番号についても併せて調べた結果について図1に併記した。

人工海水 M-ESAW 培地で培養したアマノリ各品種の葉状体は、スサビ緑芽とオオバグリーンを除く18品種で赤褐色の色調であったが、野外の養殖漁場で一般的にみられる葉状体の色調と比較するとやや赤みが強い色調となっている。今回は20品種を統一条件で比較するための方法として、採水時期により組成が変動する可能性のある自然海水ではなく、人工海水を用いて基本的培養条件による室内培養試験を行ったが、人工海水の組成や水温などの培養条件の違いが葉状体の色調に影響を与えることも考えられる。葉状体の色調を野外の養殖漁場のものに近づけつつ、さらに再現性の高い室内培養試験を実施するため、各条件については今後もさらに改良を進めていく必要がある。



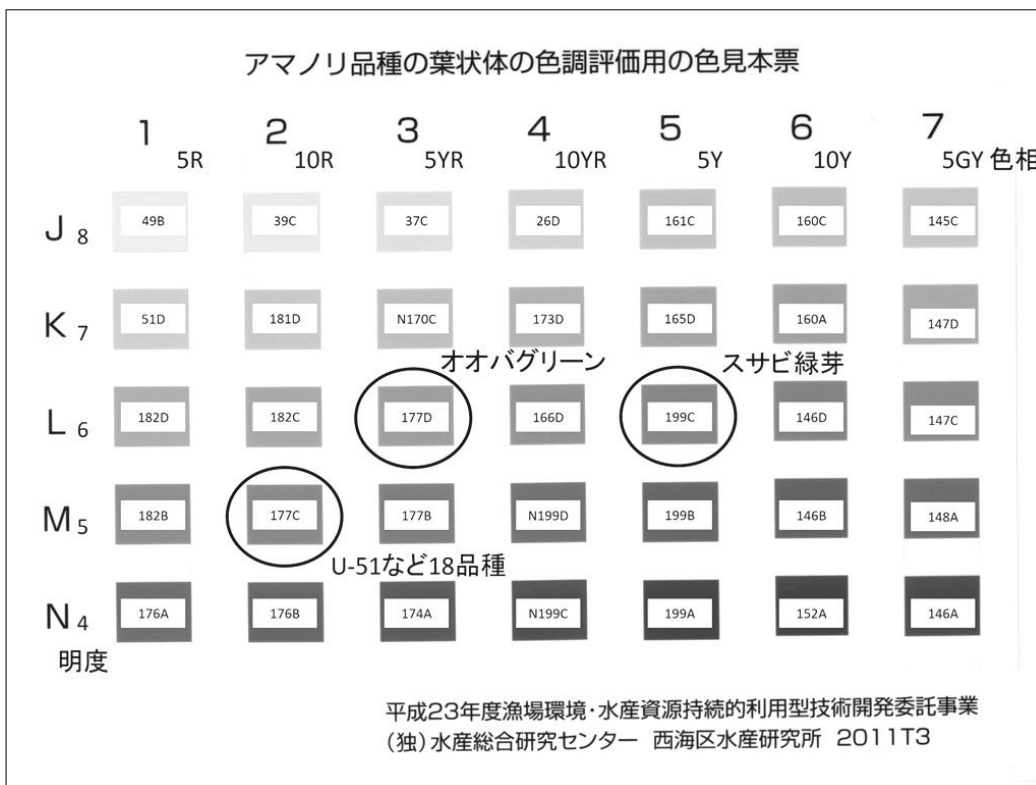
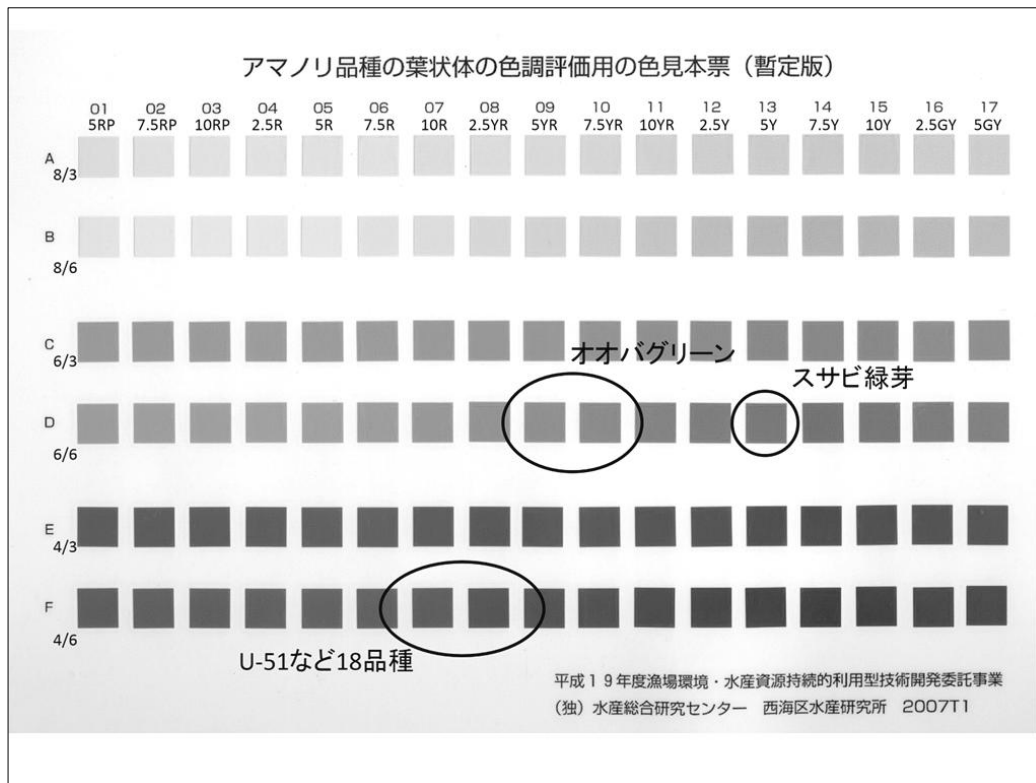


図1 暫定版色見本票（上）および改訂版色見本票（下）による各品種の評価結果  
 A-Fの右下の数字は明度／彩度，01-17の下は英数字は色相，  
 J-Mの右下の数字は明度，1-7の右の英数字は色相をそれぞれ示す  
 改訂版色見本票の各色票の中央の英数字は該当するRHSカラーチャート番号

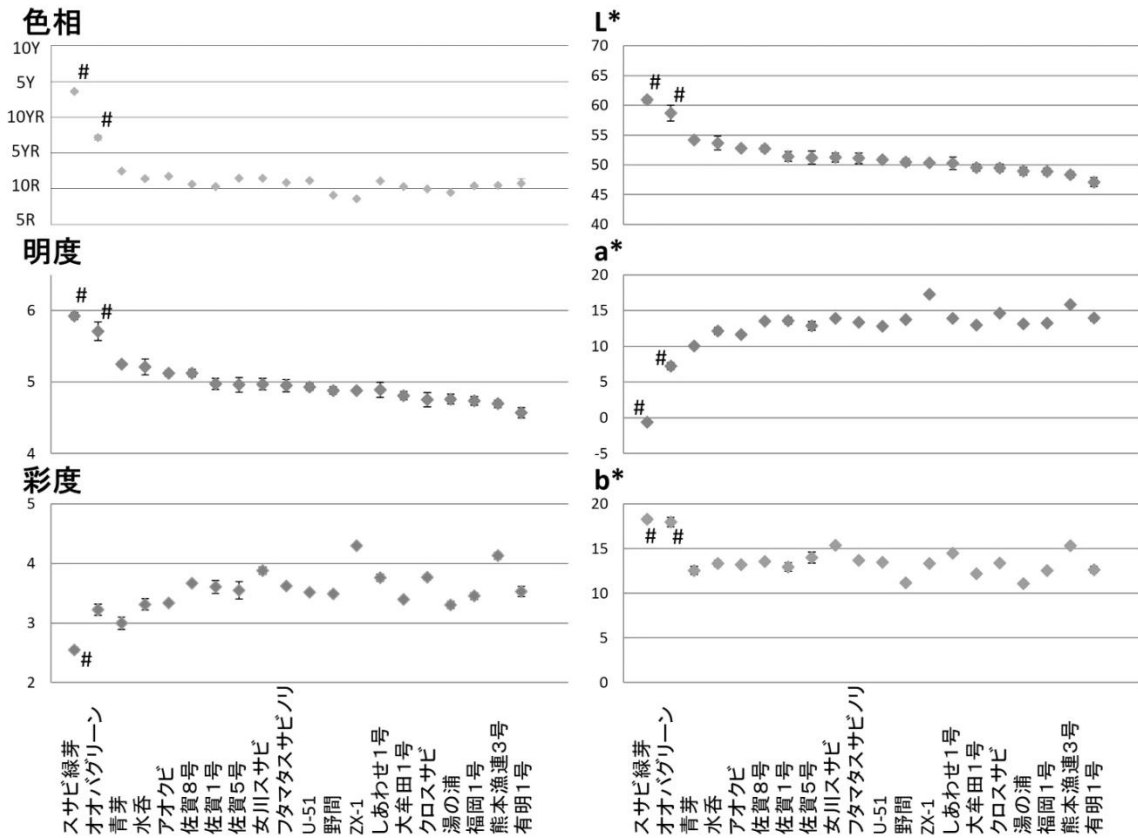


図2 色彩色差計で計測した各品種の計測結果  
 左：マンセル表色系（色相，明度，彩度） 右：L\*a\*b\*表色系  
 縦方向の棒は標準誤差を表す  
 #記号は赤褐色の18品種（青芽～有明1号）と5%水準で有意差あり

## 文献

- 日本規格協会・日本色彩研究所（1977）標準色票：JIS Z 8721 準拠 第7版。
- 日本水産資源保護協会（1981）昭和55年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり，すさびのりの栽培試験法）。日本水産資源保護協会，東京。70pp.
- 農林水産省生産局知的財産課（2009）最新逐条解説種苗法。ぎょうせい，東京，pp. 632-634.
- Huse, R. D. and K. L. Kelly (1984) A contribution toward standardization of color names in horticulture. American Rhododendron Society, Tigard, Oregon, pp. 1-43.
- Luo M. R., G. Cui and B. Rigg (2001) The development of the CIE 2000 colour-difference formula: CIEDE2000. *Color research and Application* 26, 340-350.
- Lootens, P., J. Van Waes and L. Carlier (2007) Evaluation of the tepal colour of *Begonia x tuberhybrida* Voss. For DUS testing using image analysis. *Euphytica* 155, 135-142.
- Royal Horticultural Society (1986) R.H.S. colour chart, 2nd ed. Royal Horticultural Society, London.

### 3-4. 栄養繁殖性

山本有司・落合真哉・石元伸一  
土居内靖子・服部克也

日本国内で養殖されているスサビノリ等のアマノリ類葉状体の繁殖方法は、大きく分けて有性生殖による方法と無性生殖による方法がある。有性生殖では、葉状体上に形成される雌性細胞（造果器）が、同じく葉状体上に形成される雄性細胞（造精器）から放出された精子によって受精し、形成された接合胞子が糸状体に生長し、成熟した糸状体から放出された殻胞子が発芽して葉状体に生長する（黒木 1961, 能登谷 2000a）。一方、無性生殖では、葉状体先端部の栄養細胞が原胞子として放出され（図 1）、基質に付着した原胞子から新たな葉状体が再生する（黒木 1961, 能登谷 2000a）。この葉状体の無性生殖をノリの栄養繁殖というが、栄養繁殖性はノリ養殖を行う上で重要な形質である。ノリ養殖では通常、生産網に複数回摘採を行うため、栄養繁殖性は収量に大きな影響を与える（三浦 1965）。近年は高水温化に伴い、ノリ養殖では生産網の張り替えを行わない一期作が増加しているが、一期作では生産網あたりの摘採回数が増加するので、栄養繁殖性はさらに大きな影響を収量に与える。また、スサビノリ葉状体は葉令が増加すると葉状体の厚さが増して堅くなる傾向があることから（野田・岩田 1978）、栄養繁殖性は製品の品質に大きな影響を与えると考えられる。さらに、栄養繁殖性はノリの育種に重要な役割を果たしており、育種の主な手法として、高水温耐性や生長性などの優れた形質をもつ葉状体に原胞子を放出させて、原胞子から生長した葉状体から選抜を繰り返す手法が用いられている（能登谷 2000b）。アマノリ類の栄養繁殖性を利用した新たな取り組みとして、ノリ葉状体に高塩分処理を施して原胞子の放出を促進し、育苗不良網を再生する取り組みが試みられている（坂口・岩出 2011）。

現在、輸入されている韓国や中国産のノリは増加傾向にあり、国内の生産者にとっては、価格の低下やノリ需要の伸び悩みと共に、大きな脅威となっている。こうした状況の中で、国内のノリ生産の振興をはかるためにはノリ優良品種を登録して育成者権を保護し、優良品種の海外流出を防ぐ必要がある。養殖ノリの栄養繁殖性は品種により異なるとされ（野田・岩田 1978）、昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書にはノリの品種登録に必要な栄養繁殖特性の評価方法は野外試験で行うことが規定されている。しかし、水温や塩分など海域の環境条件は年変動が大きく、原胞子の放出量が試験年度により大きく異なるため（川村・山下 1990）、形質の評価を正確に行うことが困難である。また、野外試験で特性評価を行うことは労力的、経費的にも負担が大きい。そこで、本課題では、環境変化の大きい野外試験ではなく、一定した環境が保たれる室内試験により品種の形質評価を可能にするための手法のうち、生産性に大きな影響を与える栄養繁殖性についての評価手法の開発を目的とした。

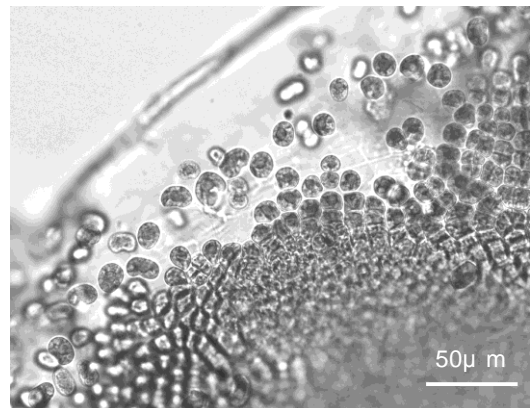


図1 原胞子を放出する葉状体 (U-51)

## 方 法

培養水温はウォーターバスを用いて 18℃, 20℃, 22℃の 3 温度に設定し、水温以外の培養条件は基本的培養条件 (1/2SWM-III 改変培地, 光量  $60 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ , 光周期 11L:13D, 通気量は 10 枝付きフラスコ 30 回転/分になるように調整) に準じた。培養容器は枝付き 10 フラスコを用い、殻胞子が付着したビニロン単糸を容器に入れて通気培養した。培養 7 日目および 14 日目にそれぞれ培養液を全量交換し、最初に投入したビニロン単糸 (葉状体が付着) への原胞子発芽体の付着状況を観察した。また、培養 14 日目には葉状体をビニロン単糸から剥離後、実体顕微鏡下で剥離の障害を受けていない葉状体 50 枚を選別し、新たなビニロン単糸 4cm×3 本 (直径 250  $\mu\text{m}$ ) とともに培養した。培養 21 日目にビニロン単糸上の原胞子発芽体数を計数し、ビニロン単糸 3 本に付着した原胞子発芽体の総数を求め、葉状体数で除して「葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数」を算出した。培養試験は、1 品種につき 1 回に 2 試験区を設定し、2 回の繰り返しを行い、計 4 回のデータ (ビニロン単糸 3 本×4 回の 12 データ) を用いて葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数の平均値及び標準誤差を求めた。以上の方法により指定された 20 品種と愛知県水産試験場漁業生産研究所と愛知県漁業協同組合連合会が共同で開発して品種登録を行った Y-3-2A (登録名称: あゆち黒吉) の栄養繁殖性を評価した。

今回定めた評価手法のうち培養期間については、U-51, 大牟田 1 号, アオクビの 3 品種を用いた予備実験の結果をもとに設定した。上記と同様な方法で 28 日間培養し、7 日ごとに原胞子発芽体および葉状体の状況を観察した。7 日および 14 日目には、3 品種とも原胞子発芽体が確認できなかった。21 日目には、3 品種ともいずれかの温度区で原胞子発芽体の付着が確認された。28 日目には、3 品種ともほとんどの試験区で葉状体が成熟し、成熟が著しい場合には大量の原胞子発芽体の付着が観察されたが、これらは葉状体の生殖班が崩壊したことにより、原胞子の放出が促進されたためと考えられた。これらの結果から、原胞子の放出は概ね 14 日目以降であり、28 日目では成熟の影響を受けることが想定されるため、詳細な調査期間を 14~21 日目に設定した。なお、予備実験では葉状体の原胞子放出痕についても観察を行ったが、放出痕がみられる場合は必ず原胞子発芽体が確認された。

## 結果及び考察

室内培養により栄養繁殖性の評価を行った結果を表 1 に示した。佐賀 5 号と水呑, 女川スサビ, フタマタスサビノリ, 熊本漁連 3 号, 野間, 湯の浦は 21 日目までにどの水温でも原胞子を全く放出しなかった。U-51 とスサビ緑芽, 有明 1 号, 青芽, しあわせ 1 号, 佐賀 1 号, クロスサビ, 福岡 1 号は 21 日目に原胞子の放出が認められたが、葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数は 1 個未満だった。ZX-1 は 21 日目に原胞子の放出が認められ、20℃での葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数は 2.97 を示したが、18℃と 22℃では 1 未満で培養水温により栄養繁殖性が異なる傾向があった。大牟田 1 号は 21 日目に原胞子の放出が認められ、葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数は 20℃で 7.35 であったが、18℃では 0.05, 22℃では原胞子の放出は無く、培養水温により栄養繁殖性が異なる傾向があった。アオクビは 21 日目に 18℃で葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数が 11.93 だったが、20℃と 22℃では原胞子の放出は無く、培養水温による栄養繁殖性が異なった。オオバグリーンと Y-3-2A の 2 品種は 14 日目からいずれの水温でも原胞子の放出が認められた。オオバグリーンは 21 日目の葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数が 18℃で 102.40, 20℃で 171.60, 22℃で 157.50 を示した。Y-3-2A の 21 日目の葉状体 1 枚あたりの有効原胞子数は 18℃で 120.85, 20℃で 122.26, 22℃で 68.12 を示し、両品種は培養水温による栄養繁殖性の差

は少なかった。佐賀8号は21日目に原胞子の放出が認められ、葉状体1枚あたりの有効原胞子数が18℃では369.97で他の品種と比較して最も大きい値であったが、20℃では1.90、22℃では6.91で、培養水温により栄養繁殖性が大きく異なった。これらの結果から、栄養繁殖性は品種により大きく異なることと、一部の品種では水温により栄養繁殖性が異なることが確認された。

昭和54年度種苗特性分類調査報告書では、網糸1cmに付着した葉状体1枚あたりの原胞子発芽体数（文中は原胞子発芽体数と表記）から特性値を定めており、本試験で求めた葉状体1枚あたりの有効原胞子数と概ね同等の求め方と考えられることから、昭和54年度特性分類調査報告書と本試験の結果を比較検討した。昭和54年度特性分類調査報告書では、水呑と湯の浦、フタマスサビノリ、野間、佐賀5号は栄養繁殖性が中（網糸1cmの葉状体1枚あたりの原胞子発芽体数が10～50）となっているが、本試験ではいずれも原胞子の放出は確認されなかった。有明1号については栄養繁殖性が中、福岡1号については栄養繁殖性が多数（網糸1cmの葉状体1枚あたりの原胞子発芽体数が50以上）とされていたが、本試験ではどちらも葉状体1枚あたりの有効原胞子数が1未満であった。オオバグリーンの栄養繁殖性は中とされていたが、本試験では葉状体1枚あたりの有効原胞子数が102.40～171.60で、本試験で調査した8品種全ての栄養繁殖性が昭和54年度種苗特性分類調査報告書の調査結果と大きく異なったが、その理由の特定は困難である。また、野外養殖試験の浮き流し式養殖の項で後述される平成19年度から22年度の岡山県水産試験場の野外養殖試験結果では、網糸1cmあたりの葉状体1枚あたりの原胞子発芽体数がU51では0.042～0.25、佐賀5号が0.042～0.52、佐賀8号が0.002～0.006で、U-51と佐賀5号は本試験の結果と大差なかったが、佐賀8号は本試験の結果と大きく異なった。その原因は特定できていないが、水温以外にも栄養繁殖性を制限するといわれる干出や塩分濃度などの環境要因が一部の品種には大きな影響を与える可能性が考えられる。

本試験では21日目以降の栄養繁殖性は評価できなかったため、大きく生長した葉状体が示す栄養繁殖性は把握できなかった。

予備的に行った培養試験では、培養21日目の葉状体（U-51）に干出を与えると、干出を与えなかった場合に比べ原胞子発芽体数が増加する傾向を示した。実際の養殖現場において、育苗期の干出は重要な要素であり、干出を多く与えた生産網は原胞子の付着が多いと報告されている（野田・岩田 1978）。また、本試験では塩分濃度による栄養繁殖性への影響も検討していないが、海域の塩分濃度が栄養繁殖性に影響を与える可能性があること指摘されていることから（川村・山下 1990）、本試験で行った培養方法では様々に変動する気象条件のもとで行われる海域での養殖現場でノリが示す栄養繁殖性を再現しきれない可能性はある。

本試験は、品種登録を促進するための培養試験下での簡便な形質評価手法の開発を目的としているため、水温条件による栄養繁殖性の変動のみを評価したが、生産現場においては育苗期に葉状体に干出を与えることは必須であり、塩分濃度も変動があるため、干出や塩分濃度が栄養繁殖性に与える影響について、今後、解明することが望まれる。

表 1 ノリ養殖品種の栄養繁殖性(葉状態1枚あたりの有効原胞子数)

品種名	18°C			20°C			22°C		
	7日目*	14日目*	21日目**	7日目	14日目	21日目	7日目	14日目	21日目
佐賀5号	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
水呑	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
女川スサビ	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
フタマタスサビノリ	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
熊本漁連3号	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
野間	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
湯の浦	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
U-51	—	—	0 ± 0	—	—	0.36 ± 0.19	—	—	0 ± 0
スサビ緑芽	—	—	0.15 ± 0.08	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
有明1号	—	—	0.09 ± 0.03	—	—	0.11 ± 0.06	—	—	0.44 ± 0.07
青芽	—	—	0.25 ± 0.07	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
しあわせ1号	—	—	0.01 ± 0.01	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
佐賀1号	—	—	0.23 ± 0.12	—	—	0 ± 0	—	—	0.22 ± 0.09
クロスサビ	—	—	0.02 ± 0.01	—	—	0.01 ± 0.01	—	—	0 ± 0
福岡1号	—	—	0.06 ± 0.03	—	—	0.01 ± 0.01	—	—	0.01 ± 0.01
ZX-1	—	—	0.01 ± 0.01	—	—	2.97 ± 0.63	—	—	0.02 ± 0.01
大牟田1号	—	—	0.05 ± 0.03	—	—	7.35 ± 4.32	—	—	0 ± 0
アオケビ	—	—	11.93 ± 5.73	—	—	0 ± 0	—	—	0 ± 0
オオバグリーン	—	+	102.40 ± 4.20	—	+	171.60 ± 20.72	—	+	157.70 ± 7.67
Y-3-2A	—	+	120.85 ± 7.69	—	+	122.26 ± 8.80	—	+	68.12 ± 5.62
佐賀8号	—	—	369.97 ± 15.69	—	—	1.90 ± 0.39	—	—	6.91 ± 1.90

\* 7日目、14日目は、原胞子発芽体の有無を記載

\*\* 21日目は、葉状態1枚あたりの有効原胞子数(ビニロン単系3本に付着していた原胞子発芽体の総数を培養葉状態枚数で除した値×4回分)の平均値±標準誤差

## 文 献

- 川村嘉応・山下康夫（1990）養殖場におけるナラワスサビノリの単胞子の放出について．佐有水試研報，12，97-100.
- 黒木宗尚（1961）養殖アマノリの種類とその生活史(アマノリ類の生活史の研究 第Ⅱ報)．東北海区水産研究所研究報告，18，4-75.
- 坂口研一・岩出将英（2011）黒のり優良品種および育苗不良網再生技術開発に関する研究．平成 22 年度三重県水産研究所事業報告，73-75.
- 日本水産資源保護協会（1980）昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり，すさびのり）．日本水産資源保護協会，東京，173pp.
- 日本水産資源保護協会（1981）昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり，すさびのり）．日本水産資源保護協会，東京，70pp.
- 野田宏行・岩田静昌（1978）海苔製品向上の手引き．全国海苔貝類漁業協同組合連合会，東京，pp. 57-87.
- 能登谷正浩（2000a）繁殖様式の多様性と進化．海苔の生物学（能登谷正浩編），成山堂，東京．pp. 15-33.
- 能登谷正浩（2000b）育種．海苔の生物学（能登谷正浩編），成山堂，東京．pp. 99-103.
- 三浦昭雄（1965）ノリ養殖における移植と品種．水産増殖，臨時号 5，48-51.

### 3-5. 遊離アミノ酸含量

玉城泉也・藤吉栄次・柿沼 誠・小林正裕

アマノリには高濃度の遊離アミノ酸が含まれることが知られており (Noda *et al.* 1975, 大房 1977), 呈味成分として重要な要素となっている。昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (栽培試験法) においても, 「重要形質」以外の形質に係る特性のうち, 製品の品質に係る形質として味に関する一項目があるが, その特性の表記については「ふつう」「甘みが強い」の 2 種類のみとなっている。そのため, 遊離アミノ酸等の呈味成分含量を評価基準として旨味の強い品種を登録する場合, 客観的な評価基準が必要となる。そこで本章では, 統一条件下で培養した各品種の葉状体試料における遊離アミノ酸含量の測定・比較を行い, 品種特性評価方法の開発に資する。

#### 方 法

ノリ葉状体中の遊離アミノ酸等の呈味成分含量には日周変動があることが知られ, ノリ葉状体中の遊離アミノ酸含量は明期中に増大し, 暗期中に減少するとされている (大房ら 1977)。著者らによる予備試験においても, 遊離アミノ酸含量は明期開始直後には少なく, その後急増し一定になる傾向を見出している。そこで, 各品種の遊離アミノ酸含量が最大となるように, 室内培養試験における葉状体試料の回収は暗期から明期直後を避け, 明期後半に実施することとした。

各品種の遊離アミノ酸含量については, 微量のアミノ酸を高感度に定量できるポストカラム-OPA 蛍光法 (励起波長 348 nm, 検出波長 450 nm) により ShimPack Amino-Li カラムと HPLC (島津製作所(株)) を用いて各品種 1 検体について分析することとした。また, 室内培養試験における培養実験ごとのばらつきを比較するため, ニンヒドリン法 (検出波長 570 nm (プロリンのみ 440 nm)) により全自動アミノ酸分析計 JLC-500/V (日本電子(株)) を用いて各品種 5 検体を分析し, 検体毎に各アミノ酸含量を合算し総遊離アミノ酸含量を求めることとした。

人工海水 M-ESAW 培地を用いた基本的培養条件による約 30 日間の培養で約 15cm に生長した各品種について, 明期後半に葉状体を回収し, 湿重量の変動がなくなるまで濾紙等を用いて十分に水分を取り除き, 湿重量を計測した。OPA 蛍光法の分析試料は乾燥重量用に約 0.5 g, 遊離アミノ酸測定用に約 2 g を秤量し, 直ちに凍結して抽出・分析まで  $-80^{\circ}\text{C}$  で保管した。ニンヒドリン法の分析試料は, 1 枝付きフラスコ 5 個を用いて培養した各品種の葉状体 0.04~0.24 g を培養容器毎に分けて秤量し, 乾燥重量および遊離アミノ酸分析用とした。

乾燥重量は常圧加熱乾燥法により各試料を  $105^{\circ}\text{C}$ , 24 時間以上乾燥させ, 恒量に達するまで乾燥・秤量を繰り返して計測した。各試料の水分含量は湿重量から乾燥重量を差し引き, 湿重量で除算して求めた。これにより求めた水分含量を用いて, 湿重量当たりの分析値を乾燥重量当たりの分析値に換算した。

遊離アミノ酸の抽出は Noda *et al.* (1975) に従い, 100 ml の 75% エタノールを用いて  $90^{\circ}\text{C}$  湯浴中で 3 回抽出を行い, 全量の溶液を合わせて  $35^{\circ}\text{C}$  湯浴中, 減圧下で 100~150 ml まで濃縮した後に分液漏斗へ移し, 等量のジエチルエーテルを加えて攪拌, 静置し脂溶性成分を除去した。分液漏斗から水層を回収し, 減圧下で蒸発, 乾燥させ, 2 ml の 0.15 N クエン酸リチウム緩衝液 (pH 2.6) へ溶解した上で,  $0.45\ \mu\text{m}$  フィルターで濾過して遊離アミノ酸分析に供した。



### 結果および考察

OPA 蛍光法による分析結果 (図 1) では、熊本漁連 3 号, ZX-1, 女川スサビおよび福岡 1 号の 4 品種で 5000 mg (以下の遊離アミノ酸含量は全て 100 g 乾燥藻体あたりの含量で示す), クロスサビ, スサビ緑芽, オオバグリーンおよび湯の浦の 4 品種で 4000 mg を超える値となり, 大牟田 1 号や青芽は 3000 mg を下回っていた。Noda *et al.* (1975), 野田・岩田 (1983) および天野 (1991) によると, 野外養殖漁場において採集した葉状体の遊離アミノ酸含量は 2200~5000 mg であり, 今回の室内培養試験による値は野外における高い方の分析値に相当する。

ニンヒドリン法による 5 容器由来試料の遊離アミノ酸含量の分析結果は, OPA 蛍光法と比較すると一部の品種を除いて多めの値となり (表 1), 熊本漁連 3 号, ZX-1, 女川スサビおよびスサビ緑芽が 5000 mg を超え, 逆に大牟田 1 号や青芽は 3000 mg を下回った。

ニンヒドリン法による遊離アミノ酸含量の平均値について Dunnett の手法により U-51 の分析結果との多重比較を行った結果, 熊本漁連 3 号, ZX-1, 女川スサビ, 福岡 1 号, クロスサビ, スサビ緑芽, オオバグリーンの 7 品種では U-51 より多く, 大牟田 1 号および青芽の 2 品種では U-51 より少なく (有意水準 1%), 統計処理の結果でも OPA 蛍光法による分析結果の順位と概ね同様の傾向がみられた。

ニンヒドリン法による遊離アミノ酸含量の分析結果において, 多くの品種で OPA 蛍光法による分析結果より多めの値となったが, その要因の一つとして, 湿重量計測の誤差が考えられる。今回の品種間比較においては 5 容器で培養した葉状体を容器ごとにまとめて 0.04~0.24g の試料としたが, 湿重量が小さい場合は葉状体の隙間に残存する水分含量が誤差の要因となる。湿重量計測の誤差を小さくして品種間の比較を行うためには, より大型の容器で葉状体を培養し, 複数葉体をまとめた上で湿重量 0.1 g 以上を 1 試料として分析することが望ましい。

遊離アミノ酸の抽出方法には, 今回用いた 75%エタノールによる熱水抽出のほかに, 過塩素酸を用いる方法が魚類 (村田ら 1993) や甲殻類 (臼井ら 2000) を対象に用いられている。ノリの葉状体には紅藻澱粉が含まれることが知られ (Percival and McDowell, 1967), 過塩素酸抽出ではエタノール抽出と比較してこれらの多糖類の混入が多く, 溶解後の試料の粘性が高まりフィルター濾過が困難になることから (辻野 1961), 以後の分析に支障を来すおそれがある。このため, ノリのように多糖類を多く含む試料中の遊離アミノ酸等の呈味成分を分析する場合は, 抽出時の粘性が少なく試料を濾過しやすい 75%エタノールによる抽出方法が望ましい。

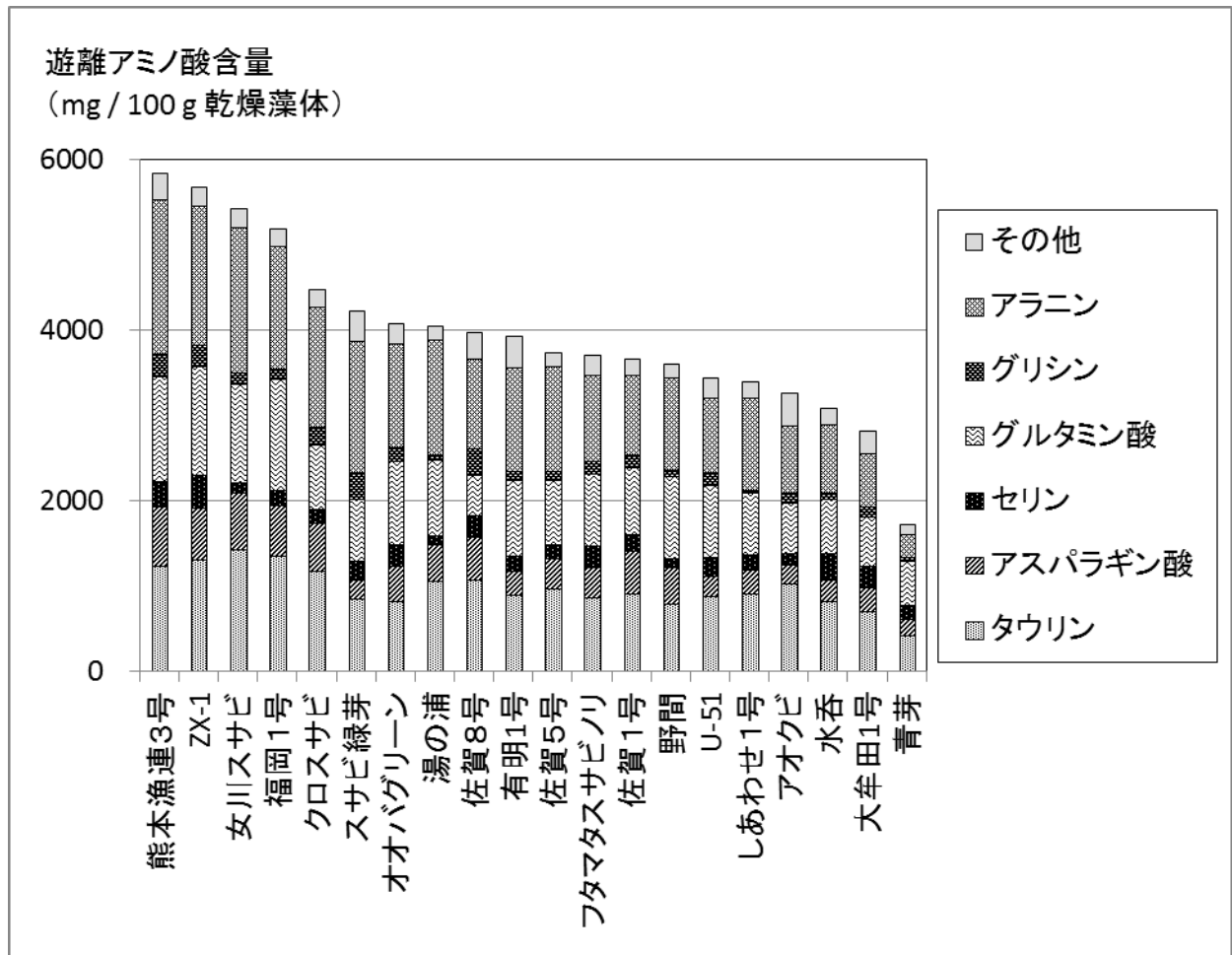


図1 室内培養試験による各品種の遊離アミノ酸含量  
(OPA 蛍光法による分析値)

表1 OPA 蛍光法およびニンヒドリン法により測定した各品種の遊離アミノ酸含量  
 単位：mg / 100 g 乾燥藻体, \*: ニンヒドリン法においてU-51 と有意差あり

品種名	OPA 蛍光法	ニンヒドリン法	
熊本漁連3号	5825	5365± 50	*
ZX-1	5662	5562± 43	*
女川スサビ	5418	5963±209	*
福岡1号	5174	4762± 34	*
クロスサビ	4460	4727± 65	*
スサビ緑芽	4211	5243±334	*
オオバグリーン	4067	4961±152	*
湯の浦	4033	4142±301	
佐賀8号	3955	4608±177	
有明1号	3914	4336±108	
佐賀5号	3721	4534±136	
フタマタスサビノリ	3692	4722±330	
佐賀1号	3655	3937±158	
野間	3594	4024±138	
U-51	3422	3865± 87	
しあわせ1号	3387	4057±234	
アオクビ	3257	4125± 55	
水呑	3080	4435± 36	
大牟田1号	2801	2984±179	*
青芽	1714	2020± 64	*

## 文 献

- 天野秀臣 (1991) 海藻の生化学とバイオテクノロジー. 水産生物化学 (山口勝己編), 東京大学出版会, 東京, pp. 170-212.
- 臼井一茂・石井洋・小川砂郎 (2000) 東京湾産白シャコの遊離アミノ酸, 核酸関連化合物, 脂肪酸組成について. 神奈川県水産研究所研究報告 **5**, 45-47.
- 大房剛・荒木繁・桜井武麿・斉藤宗勝 (1977) アマノリの日周変化に関する生理的研究-II. 室内培養下の藻体にみられた生長および 2, 3 の成分含有量について. 日本水産学会誌 **43**, 251-254.
- 辻野勇 (1961) 海藻の特殊成分の研究 II. 紅藻特有成分の抽出及び分離. 北海道大学水産学部研究彙報 **12**, 59-65.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和55年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- 野田宏行・岩田静昌 (1983) 新編・海苔製品向上の手引き. 全国海苔貝類漁業協同組合連合会, 東京, pp. 35-38.
- Noda H, Y. Horiguchi and S. Araki (1975) Studies on the Flavor Substances of 'Nori', the Dried Laver *Porphyra* spp. -II. Free Amino Acids and 5'-Nucleotides. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **41**, 1299-1303.
- Percival, E. and R. H. McDowell (1967) Chemistry and Enzymology of Marine Algal Polysaccharides. Academic Press, London and New York, p. 76.
- 村田道代・赤羽義章・塩田二三子・坂口守彦 (1993) 氷蔵中のタラとハマチ筋肉の呈味と IMP 及び遊離アミノ酸含量の変化. 調理科学 **26**, 310-314.

### 3-6. 高温耐性

島田裕至

ノリ養殖は、温暖化等による秋季の海水温の上昇や水温低下の鈍化によって、葉状体の異形化、ノリ網からの脱落、生長不良等の悪影響を受けて生産性や品質の低下が大きな問題になっている。現状では漁期の開始を遅らせるなどして対応しているが、一方で漁期の短縮による生産量の減少が生じている。そのため、近年では養殖現場から高温耐性品種の開発が強く求められるようになり、多くのノリ生産県で高温耐性品種の開発の取り組みが行われている（全国海苔貝類漁業協同組合連合会 2011）。

高温耐性をもつ新品種の育種や作出された株の品種登録を推進するにあたっては、葉状体の高温耐性を評価する形質およびその特性評価手法を一定にすることが望ましい。アマノリの品種登録のための試験要領を記載した昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書では、温度適応性の項目において、「幼芽を日齢 1 日より水温 15, 17.5, 20, 22.5, 25℃で日齢 21 日まで培養し、この間の日生長および障害度を死細胞を赤色に染めるエリスロシン染色によって調べ、温度適応性を判定する」こととしている。これまでのノリ葉状体の高水温に対する影響については、山内（1974）はオオバアサクサノリを温度 30, 25, 20, 15, 10, 5℃で 16 日間培養した場合に、20℃以下では異常形態は生じないが、30℃ではすべての芽が枯死後に脱落し、25℃では枯死する細胞はないものの大部分の芽が鎌状の芽曲がり、くびれ、波状隆起、肥厚突出などの複合した異常形態を呈し生長不良となることを報告している。また、三根ら（2013）はスサビノリ養殖株およびクローン株を水温 25, 23, 18℃で 14 日間培養した場合、葉長は 18℃に比べて 25℃では小さく 23℃では大きくなり、異常形態は 25℃ではすべての葉状体に芽全体の縮れが生じ、23℃では 18℃に比べてくびれや先端部の縮れの発生率が高くなることを報告している。

これらの報告から実験に用いた種はアサクサノリとスサビノリで異なるものの幼芽は 25℃以上では肥厚突出や縮れなどの異常形態が顕著となり、生長は極端に遅くなることが共通した影響であり、さらに 30℃になると細胞が枯死して脱落するなどの影響が生じることが分かる。

現在、ノリ養殖は水温 23℃から降下するタイミングで野外採苗や陸上採苗網の張り出しが行われている。著者は千葉県ノリ養殖現場において網の張り出しから水温停滞や再上昇が生じた高水温漁期や試験的に水温 23℃以上から網の張り出しを行った調査において、多くのノリ網の葉状体が幼芽期に適水温漁期にはみられない多層化する異常形態が顕著に増加し、その後水温が低下した場合にも多層化箇所から縮れに移行するなどの形態悪化や生長を阻害する要因になることを観察している（島田 未発表）。

上述の報告と養殖現場の観察状況から昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書の温度適応性の評価指標である生長速度と細胞の枯死の 2 形質について検討すると、細胞の枯死は 25℃以上の高水温が継続した場合に生じる可能性はあるものの実際の養殖現場では細胞の枯死を引き起こすほどの高水温が継続することは想定し難い。また、高水温による生長の遅滞は幼芽期の高水温障害が一つの原因であり、副次的な影響と考えられる。そのため、生長と細胞の枯死は直接的な指標としては適切ではなく、異常形態の出現を調べるのが実態にあった指標ではないかと思われた。異常形態はその形状や程度が様々で判断が難しいが、著者は予備実験において適水温から高水温培養時に出現する異常形態の種類ごとの出現率を調べた結果、多層化する異常形態のみが高水温ほど出現率が高くなることを確認した。

そこで、本章では高温耐性の品種特性評価形質候補として異常形態のうち多層化に注目し、千葉県が育成した高温選抜株を加えた合計 21 品種について水温別の多層化葉状体出現率 (%) を求めて、適切な評価形質であるかを考察するとともに、品種間の耐性の違いについても明らかにすることとした。

## 方 法

実験水温は 18, 22, 24, 26°C の 4 水温区を設定した。実験水温の設定に関しては予備実験の結果から多層化葉状体出現率の品種間の差が大きく検出された 24°C を中心にして設定した。ノリ養殖における野外採苗や陸上採苗網の出庫は 23°C から開始されるが、漁期によっては開始後に 24°C 台まで再上昇する場合もあることから、現場の実態にあった水温でもある。そこで、24°C を中心にして前後 2°C の間隔で 22°C および 26°C、そして対照として生育適水温である 18°C を設定した。なお、間隔を 2°C としたのは培養庫の温度制御性能および培養の光源が蛍光灯であるために、使用する培養庫によっては設定温度の前後 ±1°C 程度の変動が生じてしまうことも考慮した。

培養期間は 0 日齢から 14 日齢までの 14 日間とした。この理由はノリ養殖において高水温の影響を大きく受けるのは育苗期であるため 0 日齢からの開始とし、育苗開始後の水温上昇や停滞により幼芽に悪影響を与える可能性が高い期間として 14 日間の設定とした。この設定に関しては、多層化葉状体出現率を経時的に計測した予備実験の結果、品種間の多層化葉状体出現率の差が大きく検出されたことから適切な設定期間と考えられる。

その他の培養条件は各章と同様に基本的培養条件に従ったが、本実験では 10 枝付き平底プラスチックに殻胞子が付着した 4 cm のビニロン単糸 (以後、「付着糸」) を 1 品種あたり 3~5 本を投入し、培養期間中の換水時に付着密度が不適な付着糸は取り除いて最終的に 1 品種あたり 3 本を残した。殻胞子の付着密度は 20~40 個/cm 程度に調整することが望ましい。なお、複数品種を同時に実験する場合には環境誤差の影響を少なくするために品種毎に異なる色のビニロン単糸で採苗を行い 1 容器で混合培養した。1 容器での混合培養は 5 品種くらいまで可能である。また、基材とした海水は、千葉県富津市地先で採取して孔径 10, 5, 1 μm のフィルターで段階的にろ過した後に蒸留水を加えて塩分を 30 psu に調整したもので、90°C で 2 時間加熱処理した後に試験区水温で調温後に使用した。培養期間中は 3~4 日に 1 回、培養液の全量と培養容器を新しいものと交換した。

多層化葉状体出現率は培養 14 日後に 1 区 (容器) あたり 100 葉状体以上の計測を行い求めた。具体的には付着糸を培養容器から取り出し、スライドガラスにのせてカバーガラスを被せ、実体顕微鏡または生物顕微鏡で多層化が発生した葉状体 (以後、「多層化葉状体」) と正常葉体を計数することで行った。なお、本実験における多層化葉状体の基準は 1 葉状体中での多層化の進行程度や発生箇所数は考慮しなかった。また、生物顕微鏡を用いる場合は開口絞りを開き気味にすると多層化箇所と正常箇所の区別が比較的容易になる。

実験は千葉県の高選抜株を加えた 21 品種を供試して、品種毎に 2 回以上に分けて計 4 区以上とした。

なお、本実験は培養水温の影響に結果が左右されるため実験前に同一の培養容器に記録式小型水温計（例えば TidbiT, Onset 社製など）を収容して数日間の日平均水温を求めて温度設定の微調整を行うとともに、さらに培養期間中も同様に水温の記録を行うことが望ましい。

### 結果および考察

ノリ葉状体に生じる多層化障害はノリの生育適水温とされる 18℃では出現せず、適水温よりも高い 22℃から多くの品種で出現するようになり、24℃および 26℃ではすべての品種で出現した（図 1）。

水温別の多層化葉状体出現率の平均値は 22℃では 7.5%±3.36（標準誤差）であったが、24℃では 77.6%±4.71 に上昇して、26℃では 100%となった（図 2）。

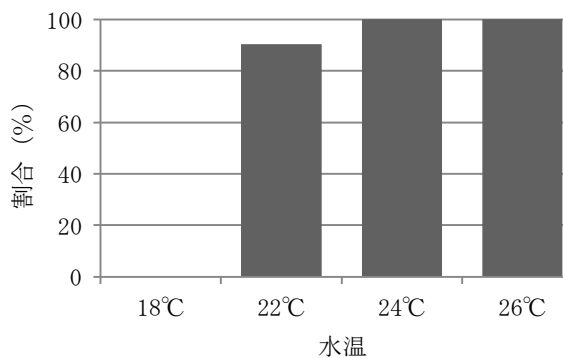


図1 多層化葉状体が出現した品種の割合

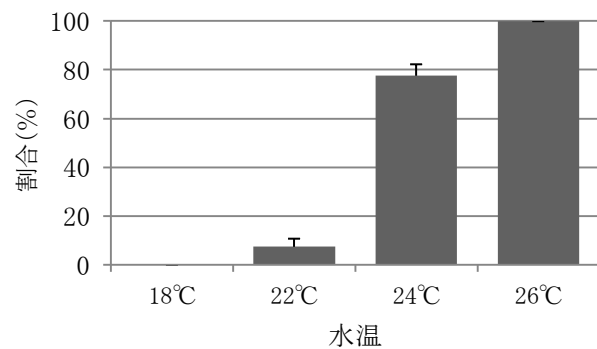


図2 水温別の多層化葉状体出現率の平均  
バーは標準誤差

多層化障害の症状は 22℃では葉状体のうち上部の縁辺部付近に発生がみられ（図 3-A）、葉状体あたりの発生箇所数は 1 箇所の場合が多く、葉状体に占める多層化箇所の面積はごくわずかであった。24℃では葉状体上部だけでなく中央部付近にも観察されるなど複数箇所に散発的に発生するようになり（図 3-B）、多層化箇所あたりの面積も 22℃区に比べて大きい傾向がみられ

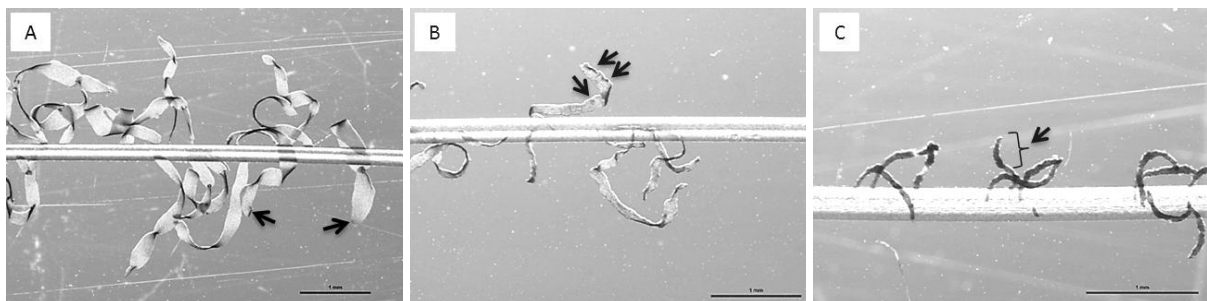


図 3 多層化の水温別の症状（実体顕微鏡での観察）画像の品種はすべて U-51

A, 22℃ B, 24℃ C, 26℃

画像中の矢印は多層化箇所を示す バーは 1 mm を示す

た。26℃では葉状体の部位に関係なく発生するようになり (図 3-C), 葉状体の大部分が多層化した状態であり, 肥厚・縮れとして観察された。

多層化箇所の葉状体の断面を観察したところ, 通常, スサビノリの葉状体は1層の細胞から構成されるが (図 4-A), 多層化と観察された箇所では2層やそれ以上の層を形成していることが確認された (図 4-B)。

山内 (1974) は 25℃で培養した場合の異常形態として多くの葉状体が肥厚突出することを報告しており, 三根 (2013) は 25℃ですべての葉状体が縮れ, 23℃では多くの葉状体に先端部の縮れを報告している。これらの報告では異常形態の表現が異なるものの, 本研究においても多層化箇所は肥厚や縮れとして観察されたことから同様の異常形態を観察しているものと思われる。また, 養殖現場で高水温漁期に発生する多層化と判断していた異常形態 (図 5) と本研究で観察された 22℃および 24℃の多層化は同様の症状であった。

以上, 従前の報告や養殖現場における異常形態と本研究の結果は一致するものであり, つまり, ノリ葉状体は高水温の影響を受けた場合に多層化する異常形態が発生し, 水温が高いほど影響は大きくなることが証明された。

品種別の多層化葉状体出現率は 18℃ではすべての品種で発生はなく (図 6-A), 26℃ではすべての品種で 100%となり品種間の差はなかった (図 6-D)。一方, 22℃では湯ノ浦の出現率が他の品種に比べて突出して高いものの, U-51 ほか多くの品種は 10%以下であった (図 6-B)。すべての品種間および湯ノ浦を除く 20 品種を分散分析による品種間の比較を行ったところ, 両者とも有意な差が認められた ( $p < 0.01$ )。24℃では U-51 が  $92.5\% \pm 2.20$  に対して, 高温選抜株が  $20.7\% \pm 3.86$  と最も低く, フタマタスサビノリ, 湯ノ浦および福岡 1 号は 100%であった (図 6-C)。分散分析を用いて品種間の比較を行ったところ有意な差が認められ ( $p < 0.01$ ), 高水温選抜株が他の品種と比較して高水温耐性を持つことが示された。

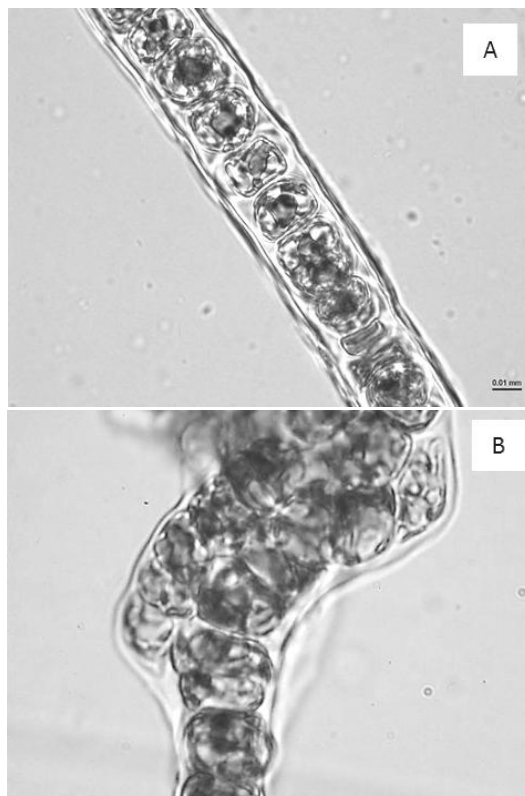


図 4 葉状体の断面  
A, 正常箇所 B, 多層化箇所  
A のバーは 0.01 mm を示す

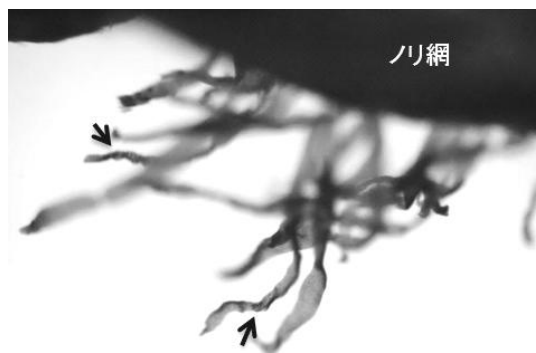


図 5 養殖ノリ網にみられた多層化葉状体  
平成 25 年 10 月 21 日 (15 日齢) 千葉県富津市  
海況: 張り込み (水温 22.7℃) 翌日から水温が再  
上昇して養殖 14 日目まで 23℃台が継続



なお、本実験では1葉状体の多層化の進行程度や発生箇所数は考慮しなかったが、多層化葉状体出現率が高い品種ほど進行が速く、発生箇所数も多い傾向がみられた。また、多層化葉状体出現率がほぼ同じ品種間でも進行程度に違いが観察された場合もあったが、進行程度や発生数の定量化は困難であるため、参考程度の記録に留めておくことが望ましいと思われる。また、オオバググリーンは培養14日目の段階で多くの葉状体の先端部が原胞子の放出により崩壊している状況となり、多層化が生じやすい先端部が崩壊することで出現率を低く見積もってしまった可能性がある。オオバググリーンは21品種中、唯一のアサクサノリ種であり、アサクサノリのように栄養繁殖性が高い種や品種は多層化葉状体出現率による評価は難しい可能性が示唆された。

以上、高水温で発生する多層化に対するノリ葉状体の耐性は18℃や26℃では本実験で供試した21品種間で差はないが、22℃や24℃では品種によって異なる特性を有していることが明らかになった。昭和54年度種苗特性分類調査報告書における12の既存品種の温度適応性の形質はすべて中として評価されている。特性評価手法を定めるにあたっては、現状の養殖品種において耐性の差を検出できることが一つの重要な条件であることから、本実験で設定した手法はその点でも適切であると考えられる。また、現状の養殖品種において26℃では耐性差はないものの、同属であるダンシサイやツクシアマノリなどの南方系に生育している種では25℃においても多層化の発生は少ない(島田 未発表)ことから、ノリの育種の今後の進展によっては26℃に耐性を有する品種が開発される可能性も考えられる。

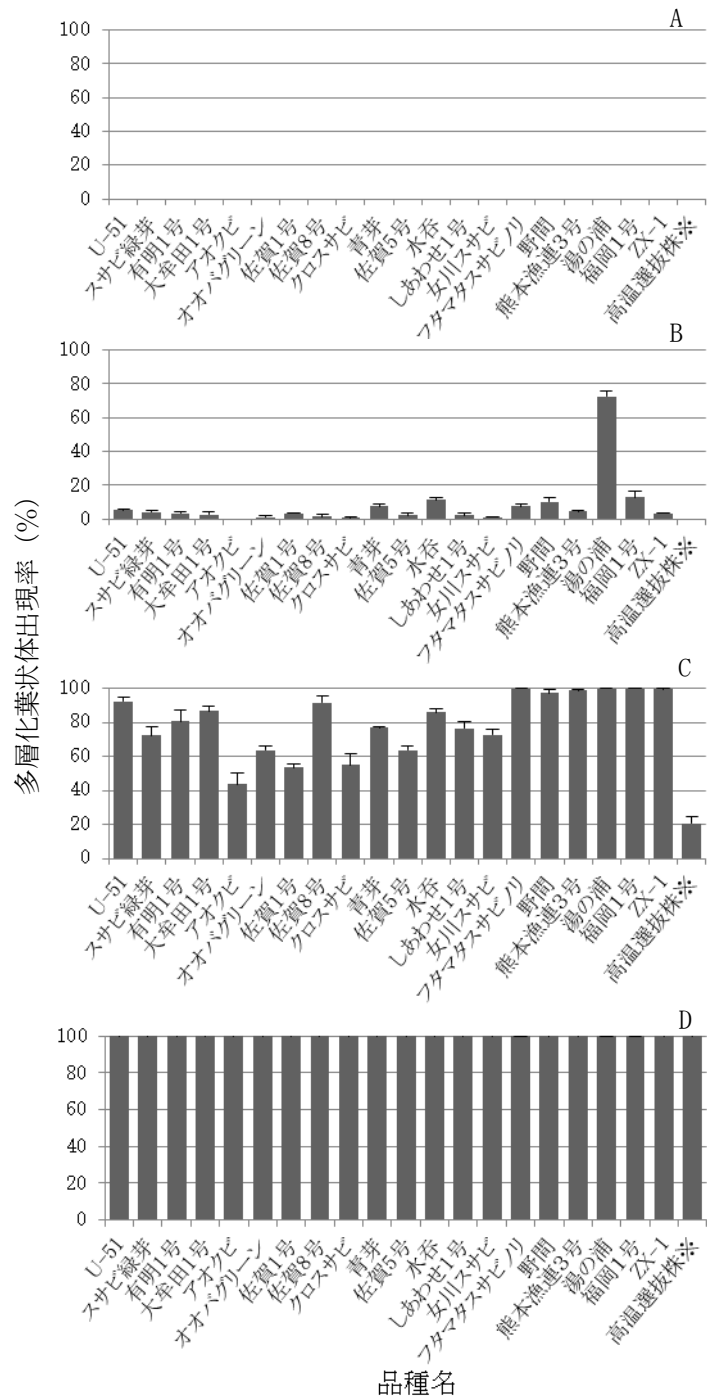


図6 品種別の多層化葉状体出現率

A, 18℃区 B, 22℃区 C, 24℃区 D, 26℃区

バーは標準誤差

本実験では従前の報告や養殖現場で観察されている高水温の影響のうち最も速く影響が現れ、かつ葉状体の健全性の低下をもたらす形質として異常形態である多層化に着目して特性評価手法を開発した。ノリ葉状体の生長は葉齢に伴い適水温が低下することが知られており、近年、養殖現場では育苗期以後も適水温よりも高い水温で停滞する漁期が多く、その場合には、葉状体のノリ網からの脱落や生長速度の遅れなど養殖上、極めて重要な形質にも大きな影響が生じてしまう。

今後、高温耐性を総合的に評価するにあたって、これらの形質に関する特性評価手法の開発が強く望まれる。

## 文 献

- 全国海苔貝類漁業協同組合連合会 (2011) 平成 22 年度ノリ養殖業高度化促進事業優良品種確保促進事業報告書. 全国海苔貝類漁業協同組合連合会, 千葉. 1-27pp.
- 日本水産資源保護協会 (1980) 昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのり). 日本水産資源保護協会, 東京. 173pp.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- 三根崇幸・横尾一成・川村嘉応 (2013) 高水温がノリ幼芽の生育に及ぼす影響. 佐有水研報, 26, 83-88.
- 山内幸児 (1974) ノリ幼芽の生長におよぼす温度の影響-I 温度条件とノリ芽の初期生長および形態について. 日水誌, 40(5), 439-446.

### 3-7. 低塩分耐性

淵上 哲・藤井直幹

ノリ養殖は陸水の影響を受けやすい内湾の沿岸域を中心に行われており、特に河口付近の漁場においては河川水の影響を強く受ける。降雨時には多量の淡水が漁場に流入して塩分濃度が低下するため、ノリ養殖に大きな影響を与える。ノリ葉状体は低塩分条件下においては生長の鈍化、異形化などの生長障害を示すことが明らかになっており(山内 1973, 切田・松井 1993), そのため、塩分の安定した沖合漁場に比べて河口漁場の生産性が低いことも示されている(切田 1993)。

その一方で、河川水の流入は豊富な栄養塩をもたらす、珪藻赤潮の発生等により栄養塩が低下した時でもその影響を受けにくいという面もある。したがって、低塩分に強い品種が開発できれば、生産性の低い河口漁場をより有効に活用することができる。実際に、低塩分耐性を指標に選抜育種を行い、品種登録を行った事例もある(福永・岩淵 2004)。

低塩分耐性の評価方法は、現在の品種登録のための試験要領となっている昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書においては、幼芽期と成葉期にそれぞれ低比重の培養液で培養し、細胞の傷害度により『せまい・中・ひろい』の 3 段階で評価するとなっている。しかしながら評価に当たった数値基準は示されておらず、対照品種との比較により行うことになっているため、あくまでも相対的な評価方法である。階級区分も 3 段階しか設定されていないので、多数の品種間で比較するには不十分である。また、塩分に関する形質として「塩分適応性」、「塩分抵抗性」、「低塩分耐性」の 3 つの表記が混在しており、そもそも形質の定義が不明確になっている面もある。

そこで、本章においては現場のニーズに合わせて低塩分条件に対する耐性(低塩分耐性)について、品種間の差を客観的かつ明確に評価できる手法を開発し、その方法を用いて各品種の低塩分耐性を評価することを目的とした。

#### 方 法

河川水の影響を受ける河口漁場においては、塩分 15 程度までの低下がみられる(福永・岩淵 2004) ので、予備実験として U-51 の殻胞子と葉長 4 mm の幼葉状体を用いて塩分 15 の培養液でそれぞれ 28 日間及び 14 日間の培養を行った。その結果、いずれも塩分 15 では対照の塩分 30 と比較して明らかに生長の低下がみられ、その影響は幼葉状体よりも殻胞子から発芽した幼芽に大きく表れる傾向がみられた。また、生長の低下は葉幅よりも葉長の差として明瞭にあらわれていたため、測定項目としては葉長が適当であると考えられた。ノリの幼芽は低塩分により障害が生じて正常に生長しなくなることから(切田 1993)、前述の結果は、幼芽が発芽初期の低塩分によって障害を起こしたことが原因であると示唆された。以上のことから、殻胞子を試料とし、低塩分条件下で一定期間培養後の葉長を測定することで低塩分に対する耐性を評価することができると考えられた。

そこで、各養殖品種の低塩分耐性を明らかにすることを目的として、殻胞子の段階から塩分 15 の低塩分での培養実験を行い、対照の塩分 30 で培養した場合と葉長を比較した。培養液の塩分は低塩分耐性評価のための塩分 30 と 15 に加え、塩分 25 と 20 の培養液を用いて実験を行った。

具体的な評価方法を以下に述べる。葉状体の培養は、培養液の塩分以外は基本的培養条件に従い、温度 18℃、光周期 11L:13D、光強度  $60 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{m}^{-2}$  とした。培養液は、予め精製水で塩分濃度 30, 25, 20, 15 の 4 段階に調整した地先海水を基本海水として作製した 1/2 SWM-III 改変培地を用いた。

まず室内採苗によって殻胞子をクレモナ（ビニロン）単糸に付着させ、6 時間程度の前培養を行って胞子の立ち上がりを確認した後、各試験区に投入した。培養液を首まで入れた 300ml の平底フラスコ中で 14 日間通気培養を行い、途中 7 日目に培養海水を全交換した。また、培養系間の誤差を小さくするため、各試験区につき 3 セットずつの培養を行った。

培養終了後、各試験区の各セットにおいてそれぞれ上位 30 個体の葉状体の葉長を測定し、3 セット計 90 個体の平均葉長を求めた。その上で、塩分 30 区の平均葉長を 100 とした各塩分区の平均葉長の相対値を平均葉長相対値とし、塩分 15 区の平均葉長相対値を低塩分耐性の指標として、既存 20 品種間で比較した。

なお、培養にあたっては、室内採苗時にクレモナ単糸への胞子付着密度が高すぎると生長不良を起こすため、クレモナ単糸 1 cm あたり数十個以下にし、多すぎる場合は使用しないようにした。また、環境条件によっては細菌が繁殖して培地が白濁することがあり、そのような場合には葉状体の生長が不良となるので試験をやり直した。

### 結果および考察

各品種の塩分区別平均葉長相対値を表 1 に示した。また、参考としてセット毎の詳細な平均葉長相対値については付図 1 に、各塩分区の実験終了時のセット毎の平均葉長については附表 1 に示した。

塩分 15 区の平均葉長相対値は、有明 1 号が 120.0 で最も大きく、大牟田 1 号が 24.7 で最も小さく、20 品種の平均では 69.1 であった。通常、低塩分条件下においては生長が鈍化するが、概ねそれに沿った結果が得られた。ただし、有明 1 号、アオクビ、佐賀 5 号の 3 品種は 100 以上であった。すなわち塩分 30 よりも塩分 15 の方が生長が良いということであり、これらについては低塩分耐性が特に高いことが示唆された。なかでも佐賀 5 号は葉長が 4~6mm に達した（附表 1）。これは 20 品種の中で飛び抜けて高い値であり、大変興味深い結果であった。逆に、大牟田 1 号、U-51 の 2 品種は平均葉長相対値が 30 未満であった。すなわち、塩分 30 に比べ塩分 15 では生長が 1/3 未満まで低下するということであり、これらについては低塩分耐性が特に低いことが示唆された。

昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書の品種別特性表には「塩分適応性」がアンケートに基づいて記載されている。そこで、今回の実験で得られた結果と比較してみることにする。各塩分区の全品種平均葉長相対値に対する当該品種の平均葉長相対値の大小により塩分適応性を判断した。すなわち、全品種平均よりも大きければその塩分への適応性が高い、小さければ適応性が低いということになる。

まず、オオバグリーンは塩分適応性が「中」とされているのに対して、全ての塩分区で全品種平均を下回り、異なる結果であった。福岡 1 号は「ひろい」に対して、塩分 25 と 20 区は全品種平均と同じ、塩分 15 区は 41.1 と全品種平均を下回り、異なる結果であった。水呑、青芽は「中」に対して、いずれも塩分 25 区は全品種平均と同じ、塩分 20 区は全品種平均以上、塩分 15 区は全品種平均以下となり、概ね同様の結果であった。湯の浦は「ひろい」に対して、塩分 25 区は 137.1、塩分 20 区は 135.0 と全品種平均を大きく上回るが、塩分 15 区は 66.3 と全品種平均とほぼ同様であり、異なる結果であった。フタマタスサビノリは「ひろい」に対して、

全塩分区とも全品種平均を上回っており、同様の結果であった。佐賀1号、佐賀5号、有明1号は「中」に対して88.1~120.0であり、異なる結果であった。

表1 既存品種の塩分区別平均葉長相対値

品種名	平均葉長相対値			塩分適応性 (S54年度報告書)
	塩分 15	塩分 20	塩分 25	
大牟田1号	24.7±1.67	77.3±1.48	80.4±1.57	—
U-51	29.5±0.59	70.3±3.86	66.7±1.91	—
オオバグリーン	35.8±1.14	70.8±6.55	32.8±3.30	中
福岡1号	41.1±6.41	100.1±8.50	122.3±19.55	ひろい
野間	46.0±9.91	52.0±7.00	66.0±9.37	—
水呑	47.3±0.04	114.1±8.33	116.2±2.26	中
青芽	53.0±2.49	106.3±3.05	114.5±2.12	中
ZX-1	55.4±16.17	71.5±21.71	82.4±19.2	—
クロスサビ	56.4±2.81	76.0±3.07	123.0±3.43	—
しあわせ1号	61.5±3.24	113.3±3.78	120.2±2.99	—
スサビ緑芽	65.0±3.23	160.5±3.98	144.9±3.29	—
湯の浦	66.3±15.41	135.0±16.18	137.1±14.5	ひろい
女川スサビ	68.4±2.57	84.4±5.39	89.6±5.79	—
佐賀8号	75.2±9.45	71.4±11.92	52.6±6.11	—
フタマスサビノリ	81.8±2.06	117.9±7.42	133.2±20.53	ひろい
熊本漁連3号	87.8±8.31	113.4±0.79	143.9±9.78	—
佐賀1号	88.6±6.16	107.0±5.74	135.1±10.17	中
佐賀5号	101.0±10.81	108.0±16.60	149.6±25.8	中
アোকビ	106.8±8.54	92.5±13.22	99.2±11.40	—
有明1号	120.0±4.62	90.0±12.9	95.7±18.35	中
全品種平均	69.1	102.3	117.6	

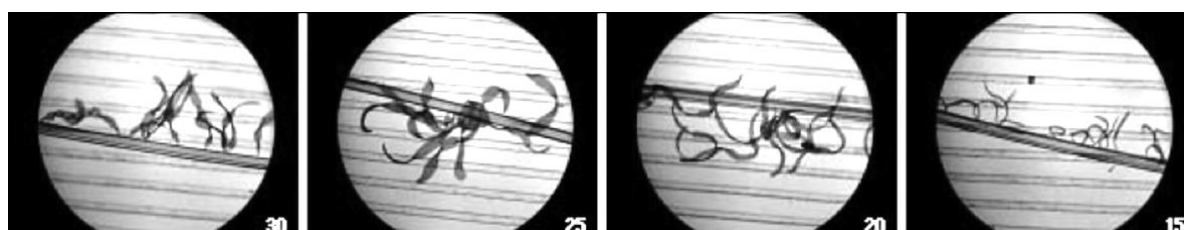


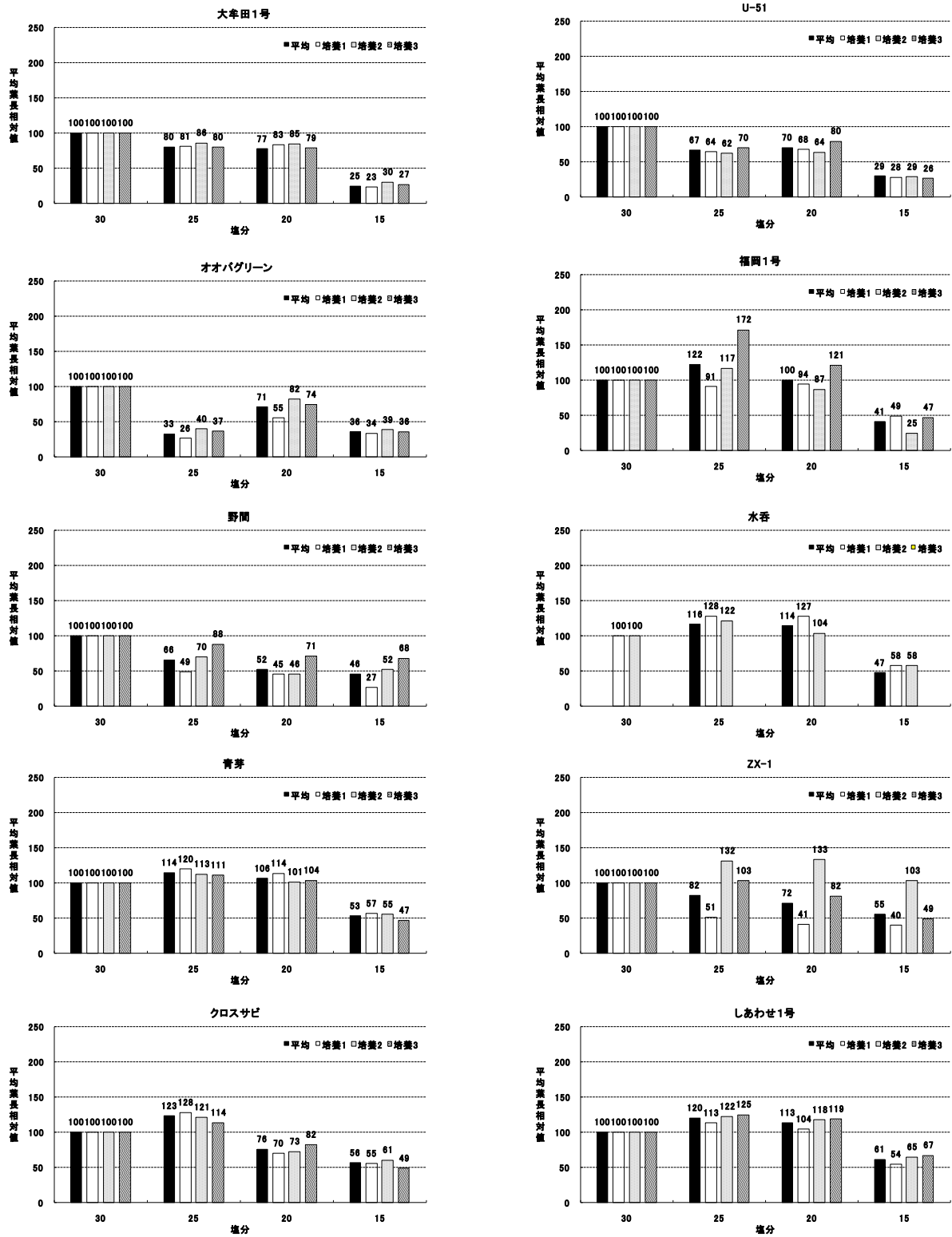
図1 異なる塩分の培地で14日間培養した葉状体（スサビ緑芽、目盛りは0.5mm）  
左から塩分30、25、20、15の順。

今回の評価手法は低塩分耐性の把握を目的とするものであるため、4段階の塩分区のうち30区と15区のみの結果を用いたが、20区と25区の結果も含めてみると、品種によって生長に違いが認められた(付図1, 付表1)。すなわち、最大の生長を示す塩分区は、30区が8品種、25区が10品種、20区が1品種(スサビ緑芽)、15区が1品種(有明1号)であった。最大の生長を示した品種が塩分25で最も多かったことは、スサビノリやアサクサノリが河川水の影響を受けやすい内湾域を中心に分布していること、あるいはそのような環境に適応した品種が選抜されてきたことと一致する結果であるといえよう。低塩分耐性のみであれば塩分30と15の2段階の培養で評価可能であるが、4段階で試験を行うことで当該品種における塩分に関する特性が把握できるので、20と25についても行うことが望ましい。

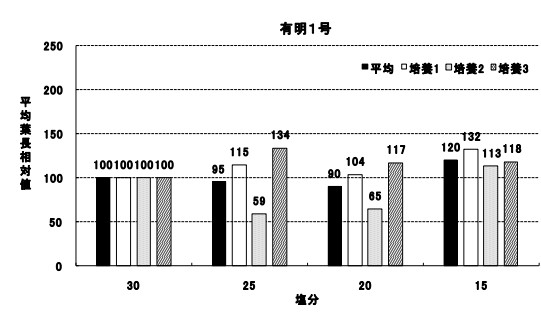
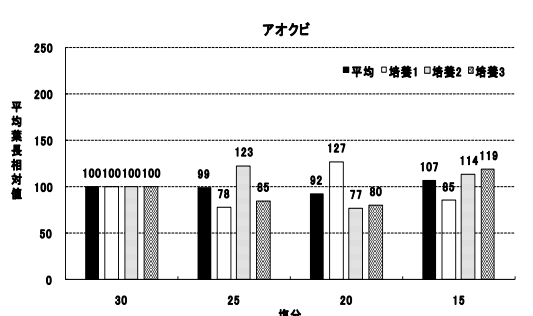
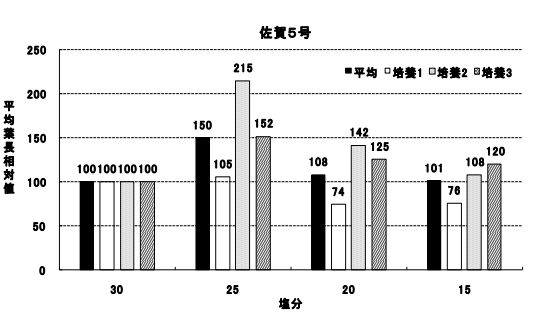
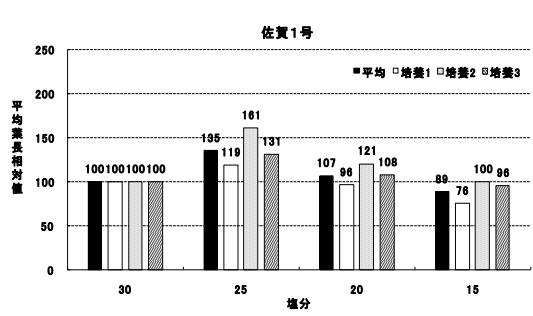
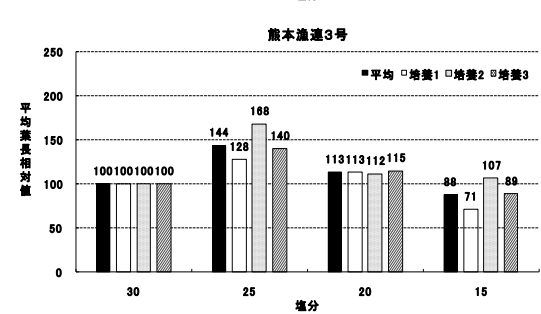
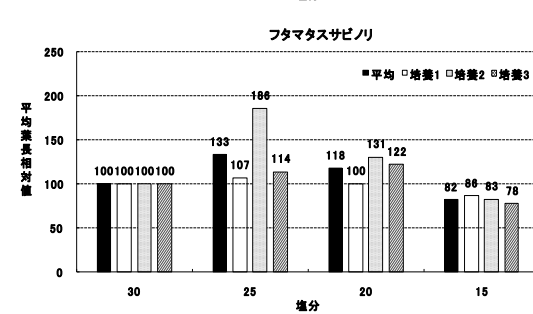
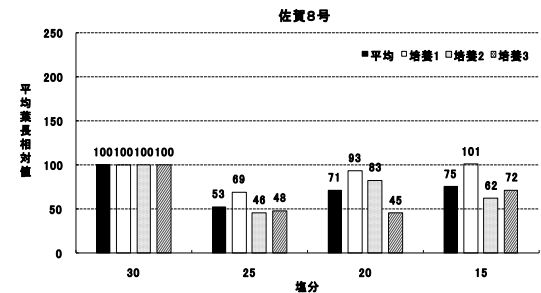
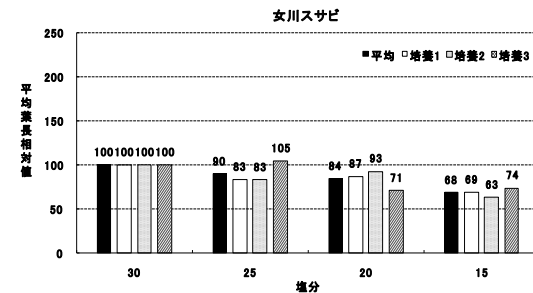
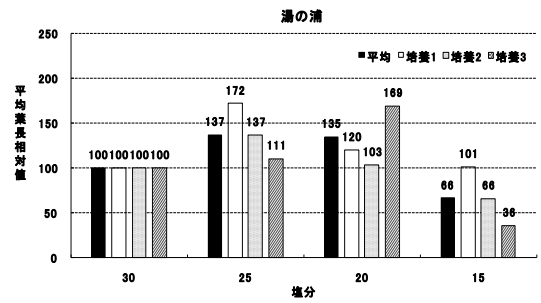
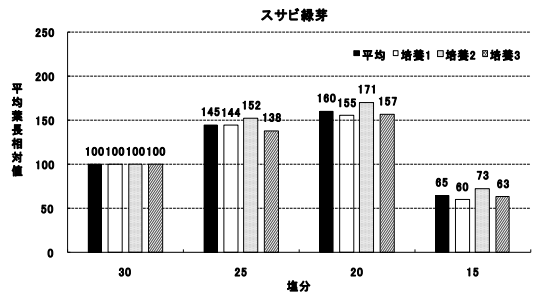
今回の試験は人工培養室内で一定に管理された環境条件下で行ったが、しばしばバクテリアの発生に悩まされた。バクテリアにより培養液の白濁が生じた場合には、同一品種であっても実験ロット間あるいは容器間で生長に大きな差が生じたり、十分な数の殻胞子を投入したにもかかわらず、実験終了時には数個体しか生残していないなど、様々な影響がみられた。培養試験に用いる容器・器具類は全て滅菌した上で、0.22 $\mu$ mのフィルターを通して通気するなど細心の注意を払ったが、それでもバクテリアの発生は抑えられず、培養方法には課題が残った。今後、バクテリアの影響を排除し安定した結果が得られる培養法が開発されることを期待したい。

## 文 献

- 切田正憲(1993) 有明海におけるノリ生産の安定化に関する研究. 福岡県水産海洋技術センター研究報告第3号, 1-68.
- 切田正憲・松井敏夫(1993) ノリ幼芽の生育に及ぼす乾燥と海水比重の影響. 水産増殖, 41(3), 281-286.
- 日本水産資源保護協会(1980) 昭和54年度種苗特性分類調査報告書(あさくさのり, すさびのり). 日本水産資源保護協会, 東京. 173pp.
- 日本水産資源保護協会(1981) 昭和55年度種苗特性分類調査報告書(あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- 福永剛・岩渕光伸(2004) 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第14号, 45-49.
- 山内幸児(1973) ノリの幼芽の生長におよぼす塩分濃度の影響. 日本水産学会誌, 39(5), 489-496.



付図1-1 各品種における試験区毎の平均葉長相対値



付図1-2 各品種における試験区毎の平均葉長相対値



付表1 各品種の培養結果

試験区(塩分)	品種名	30			25			20			15		
		平均葉長	標準誤差	個体数	平均葉長	標準誤差	個体数	平均葉長	標準誤差	個体数	平均葉長	標準誤差	個体数
大牟田1号	培養1	1.67 ± 0.12	n= 30	1.35 ± 0.06	n= 30	1.39 ± 0.04	n= 19	0.39 ± 0.05	n= 25				
	培養2	1.27 ± 0.22	n= 9	1.10 ± 0.09	n= 18	1.08 ± 0.07	n= 12	0.39 ± 0.08	n= 4				
	培養3	1.29 ± 0.38	n= 3	1.03 ± 0.00	n= 1	1.01 ± 0.08	n= 11	0.35 ± 0.11	n= 4				
U-51	培養1	1.38 ± 0.04	n= 30	0.89 ± 0.03	n= 30	0.93 ± 0.07	n= 24	0.39 ± 0.03	n= 28				
	培養2	1.04 ± 0.04	n= 30	0.65 ± 0.02	n= 8	0.66 ± 0.09	n= 9	0.30 ± 0.10	n= 4				
	培養3	0.92 ± 0.08	n= 4	0.65 ± 0.03	n= 11	0.73 ± 0.19	n= 7	0.24 ± 0.05	n= 8				
オオバグリーン	培養1	0.78 ± 0.05	n= 30	0.21 ± 0.02	n= 27	0.43 ± 0.03	n= 30	0.26 ± 0.02	n= 30				
	培養2	0.51 ± 0.03	n= 30	0.20 ± 0.02	n= 30	0.42 ± 0.02	n= 30	0.20 ± 0.02	n= 28				
	培養3	0.46 ± 0.03	n= 30	0.17 ± 0.01	n= 30	0.35 ± 0.06	n= 10	0.17 ± 0.02	n= 30				
福岡1号	培養1	0.66 ± 0.02	n= 30	0.60 ± 0.02	n= 30	0.62 ± 0.02	n= 30	0.32 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.48 ± 0.02	n= 30	0.56 ± 0.02	n= 30	0.42 ± 0.01	n= 30	0.12 ± 0.02	n= 30				
	培養3	0.47 ± 0.02	n= 30	0.81 ± 0.01	n= 30	0.57 ± 0.01	n= 30	0.22 ± 0.02	n= 19				
野間	培養1	0.51 ± 0.01	n= 30	0.25 ± 0.01	n= 30	0.23 ± 0.01	n= 30	0.14 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.44 ± 0.02	n= 30	0.31 ± 0.01	n= 30	0.20 ± 0.01	n= 30	0.23 ± 0.00	n= 30				
	培養3	0.32 ± 0.01	n= 30	0.28 ± 0.01	n= 30	0.23 ± 0.01	n= 30	0.22 ± 0.01	n= 30				
水呑	培養1	1.83 ± 0.26	n= 8	2.35 ± 0.07	n= 2	2.33 ± 0.10	n= 29	1.05 ± 0.23	n= 3				
	培養2	1.68 ± 0.53	n= 3	2.05 ± 0.21	n= 16	1.75 ± 0.06	n= 29	0.97 ± 0.30	n= 2				
	培養3	±	n= 0	±	n= 0	2.08 ± 0.00	n= 1	0.70 ± 0.12	n= 6				
青芽	培養1	2.07 ± 0.04	n= 30	2.47 ± 0.04	n= 30	2.35 ± 0.07	n= 30	1.17 ± 0.02	n= 30				
	培養2	1.99 ± 0.05	n= 30	2.24 ± 0.04	n= 30	2.02 ± 0.05	n= 30	1.10 ± 0.04	n= 30				
	培養3	1.94 ± 0.03	n= 30	2.15 ± 0.03	n= 30	2.01 ± 0.05	n= 30	0.91 ± 0.04	n= 30				
ZX-1	培養1	0.69 ± 0.01	n= 30	0.35 ± 0.01	n= 30	0.28 ± 0.01	n= 30	0.27 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.27 ± 0.01	n= 30	0.36 ± 0.01	n= 30	0.36 ± 0.01	n= 30	0.28 ± 0.01	n= 30				
	培養3	0.38 ± 0.00	n= 30	0.39 ± 0.02	n= 30	0.31 ± 0.01	n= 30	0.19 ± 0.01	n= 30				
クロスサビ	培養1	1.60 ± 0.11	n= 18	2.05 ± 0.07	n= 30	1.12 ± 0.07	n= 30	0.89 ± 0.02	n= 23				
	培養2	1.41 ± 0.08	n= 30	1.71 ± 0.10	n= 30	1.02 ± 0.06	n= 19	0.85 ± 0.03	n= 23				
	培養3	1.29 ± 0.08	n= 25	1.46 ± 0.07	n= 30	1.06 ± 0.05	n= 20	0.63 ± 0.05	n= 19				
しあわせ1号	培養1	2.20 ± 0.05	n= 30	2.49 ± 0.11	n= 30	2.30 ± 0.06	n= 30	1.20 ± 0.06	n= 30				
	培養2	1.86 ± 0.05	n= 30	2.27 ± 0.08	n= 30	2.18 ± 0.05	n= 30	1.20 ± 0.05	n= 22				
	培養3	1.70 ± 0.07	n= 30	2.12 ± 0.13	n= 24	2.02 ± 0.10	n= 25	1.14 ± 0.03	n= 30				
スサビ緑芽	培養1	1.84 ± 0.03	n= 30	2.64 ± 0.05	n= 30	2.85 ± 0.07	n= 30	1.10 ± 0.03	n= 30				
	培養2	1.51 ± 0.02	n= 30	2.30 ± 0.03	n= 30	2.57 ± 0.08	n= 30	1.10 ± 0.02	n= 30				
	培養3	1.49 ± 0.02	n= 30	2.06 ± 0.03	n= 30	2.33 ± 0.06	n= 30	0.94 ± 0.02	n= 30				
湯の浦	培養1	0.38 ± 0.01	n= 30	0.65 ± 0.02	n= 30	0.45 ± 0.02	n= 30	0.38 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.37 ± 0.01	n= 30	0.50 ± 0.02	n= 29	0.38 ± 0.01	n= 30	0.24 ± 0.02	n= 15				
	培養3	0.50 ± 0.02	n= 30	0.55 ± 0.03	n= 30	0.85 ± 0.03	n= 30	0.18 ± 0.01	n= 29				
女川ササビ	培養1	0.49 ± 0.02	n= 30	0.41 ± 0.01	n= 30	0.42 ± 0.01	n= 30	0.33 ± 0.02	n= 30				
	培養2	0.51 ± 0.02	n= 30	0.42 ± 0.01	n= 30	0.47 ± 0.01	n= 30	0.32 ± 0.01	n= 30				
	培養3	0.42 ± 0.02	n= 30	0.44 ± 0.01	n= 30	0.30 ± 0.01	n= 30	0.31 ± 0.02	n= 30				
佐賀8号	培養1	0.44 ± 0.01	n= 30	0.30 ± 0.01	n= 30	0.41 ± 0.01	n= 30	0.44 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.67 ± 0.01	n= 30	0.31 ± 0.01	n= 30	0.55 ± 0.02	n= 30	0.42 ± 0.01	n= 30				
	培養3	0.66 ± 0.02	n= 30	0.32 ± 0.01	n= 30	0.30 ± 0.01	n= 30	0.47 ± 0.01	n= 30				
フタマタスササビノリ	培養1	0.49 ± 0.01	n= 30	0.52 ± 0.01	n= 30	0.49 ± 0.01	n= 30	0.42 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.47 ± 0.01	n= 30	0.87 ± 0.02	n= 30	0.61 ± 0.01	n= 30	0.39 ± 0.01	n= 30				
	培養3	0.61 ± 0.01	n= 30	0.70 ± 0.01	n= 30	0.75 ± 0.01	n= 30	0.47 ± 0.01	n= 30				
熊本漁連3号	培養1	0.27 ± 0.01	n= 30	0.35 ± 0.01	n= 30	0.31 ± 0.01	n= 30	0.19 ± 0.00	n= 30				
	培養2	0.23 ± 0.01	n= 30	0.38 ± 0.01	n= 30	0.26 ± 0.00	n= 30	0.24 ± 0.01	n= 30				
	培養3	0.29 ± 0.01	n= 30	0.40 ± 0.01	n= 30	0.33 ± 0.01	n= 30	0.25 ± 0.01	n= 30				
佐賀1号	培養1	2.60 ± 0.06	n= 30	3.10 ± 0.12	n= 30	2.51 ± 0.08	n= 30	1.97 ± 0.05	n= 30				
	培養2	1.87 ± 0.03	n= 30	3.01 ± 0.10	n= 30	2.25 ± 0.11	n= 30	1.87 ± 0.07	n= 30				
	培養3	1.77 ± 0.03	n= 30	2.32 ± 0.15	n= 30	1.91 ± 0.09	n= 30	1.69 ± 0.07	n= 30				
佐賀5号	培養1	8.90 ± 0.66	n= 19	9.39 ± 0.68	n= 30	6.61 ± 0.70	n= 16	6.74 ± 0.39	n= 30				
	培養2	4.30 ± 0.41	n= 30	9.23 ± 1.07	n= 30	6.10 ± 0.38	n= 30	4.64 ± 0.45	n= 23				
	培養3	3.59 ± 0.30	n= 20	5.44 ± 0.60	n= 30	4.49 ± 0.35	n= 17	4.31 ± 0.49	n= 20				
アオクビ	培養1	0.56 ± 0.02	n= 30	0.43 ± 0.01	n= 30	0.71 ± 0.03	n= 30	0.47 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.82 ± 0.03	n= 30	1.01 ± 0.02	n= 30	0.63 ± 0.01	n= 30	0.94 ± 0.02	n= 30				
	培養3	0.53 ± 0.01	n= 30	0.45 ± 0.01	n= 30	0.43 ± 0.02	n= 30	0.63 ± 0.01	n= 30				
有明1号	培養1	0.48 ± 0.01	n= 30	0.55 ± 0.01	n= 30	0.50 ± 0.01	n= 30	0.64 ± 0.01	n= 30				
	培養2	0.77 ± 0.02	n= 30	0.46 ± 0.01	n= 30	0.50 ± 0.01	n= 30	0.87 ± 0.02	n= 30				
	培養3	0.47 ± 0.01	n= 30	0.63 ± 0.01	n= 30	0.55 ± 0.01	n= 30	0.56 ± 0.01	n= 30				

### 3-8. 低栄養塩耐性

松本聖治・松尾竜生

ノリ養殖では、養殖海域における栄養塩の低下による葉状体の色調低下は日常的に見受けられ、特に珍しいものではないものの、その状況が長期間継続すると、色落ちや葉状体のガサつきなどによる著しい品質低下をもたらし、最悪の場合は生産不能や漁期の早期終了に繋がってしまう。特に、近年は1月や2月など、本来は冷凍網の生産ピークであるべき時期に、ユーカンピア等の大型珪藻が増殖し、栄養塩が急速に減少してそのまま漁期を終了せざるを得ない事象が全国的に見られるようになってきており（大山ら 2008）、生産者にとって死活問題となっている。

実際の養殖現場では、ユーカンピアなど大型珪藻の長期増殖による色落ちについては、人為的な回避が困難であるが、小型珪藻の増殖や降雨不足等による一時的な栄養塩の低下であれば、極端な色調低下や葉状体の劣化が進まないように干出を強化するなど網を管理しつつ、プランクトンの減少や次の降雨・時化があるまで、何とか葉状体を保たせるという、気象・海況との我慢比べが続くような状況にある。

このような非常に厳しい状況の中、養殖ノリの品種自体にも低栄養塩環境下において色調の低下が少ないという特性（低栄養塩耐性）が求められており、本研究では、アマノリ類の低栄養環境に対する耐性の違いを、色調の変化として比較し、各品種の特性を評価した。

#### 方 法

色落ちが発生する原因は東京湾ではリン不足が主因であるが、一般的には窒素不足が原因で発生することが多い（藤澤ら1999, 川口・高辻 2010, 白石 2010）。そこで、本章では窒素源として用いられる硝酸塩等を添加していない培養液を用いて、葉状体から切り抜いた葉片を一定期間培養し、色調の変化を調べた。

葉状体の色調は、色彩色差計（日本電色社製のNF333）を用い、比較の色調が安定している部位を測定した。測定したL\*値、a\*値、b\*値から、規定の計算式「 $100 - \sqrt{L^{*2} + a^{*2} + b^{*2}}$ 」により「黒み度」を算出した。黒み度は乾海苔の色調を判断する一般的な指標の一つとして用いられており、熊本県では、黒み度45以上で「正常」、45未満は色落ち軽度、35未満は色落ち中度、30未満は色落ち重度と判断されている。したがって、色調の評価には、黒み度を主な評価指標とした。

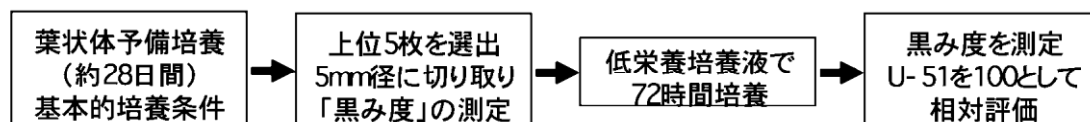


図1 低栄養塩耐性特性評価（低栄養塩暴露試験）の流れ

実験の概要は図1に示した。室内採苗によって殻胞子を付着させたクレモナ（ビニロン）糸を採苗基質として用い、培養初期は300mlの枝付き球形フラスコで、生長に伴いクレモナ糸から

葉状体を外した後は10の枝付き球形フラスコで培養した。培養には、栄養強化した蒸留水ベースの人工海水(M-ESAW培地)を用い、安定した材料が得られるように努めた。培養は、水温18℃、塩分約30(psu)、光量子量約 $60 \mu \text{molm}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、日長周期11L:13Dの基本的培養条件で行った。エアレーションの通気量は、葉状体が容器中を約30回転/分するように調整した。換水は7日間に1回の全換水を行った。さらに、試験の開始1~2日前にも換水し色調の安定化をはかった。

各品種について基本的培養条件での予備培養を約28日間とし、十分な葉幅が得られない場合は培養期間を延長した。培養期間が長くなると葉状体の成熟などによる色調の低下があるため注意した。この予備培養後に生長と色調が上位の葉状体を5枚選出し、生検トレパン(医療用パンチ)を用いて直径5mm円形に切り抜き供試葉片とした。なお、使用する色彩色差計の測定部の直径により供試葉片の直径は調整する必要が生じる(NF333の場合は、測定部の直径が約4mmで、直径5mm程度の葉片で測定可能)。円形に切り抜いた供試葉片の色調を測定した後、低栄養塩培養液(M-ESAW培地から硝酸ナトリウムを除いた培養液)を用いて基本的培養条件で3日間培養することにより、擬似的な色落ちを生じさせ、色落ちの程度を測定することにより、各品種の特性を評価した。各品種とも延べ4回以上の繰り返し試験を行い、予備培養の段階で明らかな生長不良や色調の低下などが認められた場合は予備培養をやり直した。

なお、葉片の色調評価に当たっては、対照品種であるU-51の試験開始時の黒み度を100とした指数(相対黒み度)を設定し、各品種の試験後の指数と比較した。これにより色彩色差計の差異や培養環境等により、L\*値、a\*値、b\*値の測定値に微妙な誤差が生じた場合にも比較的安定した品種特性評価が可能になった。

低栄養塩培養液での葉片の培養期間は、予備実験の結果をもとに設定した。以下予備実験の内容について概説する。予備実験では、1/2SWM-III改変培地で培養した熊本県漁連3号とスサビ緑芽の2品種の葉状体から切り抜いた葉片を用い、前述と同様な条件で低栄養塩培養液を用いて6日間培養した。黒み度の測定は開始時、3日後と6日後の終了時に行った。熊本漁連3号は、3日後には黒み度36に低下し色落ち状態となり、6日後には22まで低下し重度の色落ちとなった(図2)。一方、スサビノリの緑色変異種であるスサビ緑芽では、開始時から黒み度は低かったが、3日後には28に低下し重度の色落ちとなり、6日後には21まで低下した(図2)。今回の実験条件では、6日後には色落ちが極端に進み2品種の間に黒み度の差がほとんど見られなくなった。また、これとは別に低栄養耐性があると考えられているダンシサイと野生種のマルバアマノリを用いて、同様な条件で低栄養塩培養液を用いて3日間培養し、黒み度の変化を調べた。材料となる葉状体の培養にはM-ESAW培地を用いた。その結果、3日後にはダンシサイでは黒み度は軽度の色落

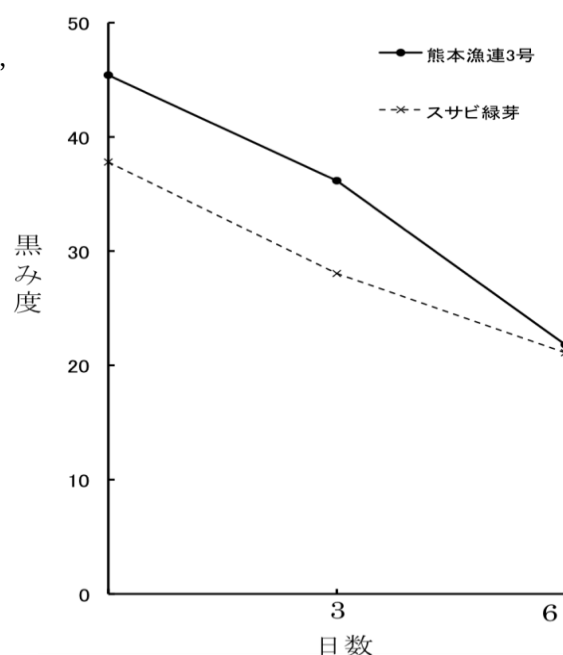


図2 低栄養塩培養液での培養による色調低下(予備実験)。

ち状態である39に、マルバアマノリでは37まで低下した。以上の結果から、低栄養塩培養液を用いて3日間培養すると品種を問わず色落ち水準まで黒み度が低下し、その値は品種間に違いが見られることが想定されたため、低栄養塩培養液での培養期間は3日間とした。

### 結果および考察

本研究に供試した全20品種の黒み度を用いた特性評価結果を表1に示した。また、黒み度、L\*値、a\*値、b\*値の実測値については、参考として付表1、2にとりまとめた。

試験後の葉片は、すべての品種について肉眼でも明瞭な色落ちが確認された。対照品種であるU-51を100として、各品種の試験前と試験後の黒み度を相対評価した結果、試験前の相対黒み度は、福岡1号が105.0で最も高く、スサビ緑芽が76.0と最も低い値を示した(表1)。低栄養塩培養液で3日間培養した試験後の相対黒み度は、フタマタスサビノリが62.0と最も高く、スサビ緑芽が47.5と最も低い値を示した。また、試験前と試験後の黒み度を比較した減少率では、女川スサビが35.7%と最も低く、佐賀1号が46.5%と最も高かった(表1)。減少率は開始時の黒み度が高い品種が大きく、開始時の黒み度が低い品種が小さくなる傾向が見られたが、フタマタスサビノリは開始時の黒み度はU-51とほぼ同じであるが減少率が38.0%と小さく試験後の相対黒み度が最も高くなった。このことから、フタマタスサビノリの低栄養塩耐性が20品種中で最も強いと考えられた。

昭和54年度種苗特性分類調査報告書では、栄養要求性の項目があり、アンケート調査の結果から、今回用いた20品種の中では水呑、湯の浦、フタマタスサビノリ、福岡1号、野間、佐賀1号、佐賀5号が中、有明1号とオオバグリーンは強いとなっている。オオバグリーンは試験後の黒み度が低く報告書の結果と一致したが、有明1号は、福岡1号等の中とされた品種と黒み度は同程度であり報告書の結果とは異なった。昭和55年度種苗特性分類調査報告書(あさくさのり、すさびのりの栽培試験法)には、幼芽・幼葉期について栄養要求性を調べる試験法が記載されており、採苗後2日目から栄養塩濃度を変えた培養液で20日間培養し生長および色調を評価することになっている。今回の試験は成葉期の色落ちを想定したものであり、昭和55年度報告書の試験法とは内容が大幅に異なっている。アンケート調査の詳細については著者らは残念ながら把握できていないが、幼芽・幼葉期を対象に想定したものと考えられ、葉状体のステージの違いも結果に影響しているのではないかと考えられる。

白石(2010)は、海上で養殖した葉状体から切り取った葉片と市販の人工海水を用い、10℃と20℃の条件で栄養塩無添加での培養を行い葉片の色調の変化を調べた。その結果、10℃と20℃のいずれの温度においても、3日後には軽度の色落ちになり、4日後には肉眼でも明瞭な色落ちとなったと報告しており、前述の予備実験とほぼ同様な結果となっている。また、白石の結果では、10℃と20℃の条件で色落ちの進行に違いが見られなかったことから、秋芽期を想定し18℃で行った本章の結果は、より低温な冷凍期においても適用できる可能性が高いと考えられる。

本章の結果は室内培養試験の結果であり、低栄養塩耐性の強い品種については養殖試験を行い、品種間にどの程度の差があるのか確認する必要がある。

表1 低栄養塩耐性特性評価試験の結果

品種名	相対黒み度±標準誤差			減少率 (%)
	開始時		試験後	
U-51	100.0	± 0.68	56.1 ± 0.35	△43.9
スサビ緑芽	76.0	± 0.82	47.5 ± 0.68	△37.5
有明1号	96.7	± 1.21	58.2 ± 0.88	△39.8
大牟田1号	104.8	± 0.45	57.9 ± 0.96	△44.7
アオクビ	93.6	± 0.79	52.7 ± 0.73	△43.7
オオバグリーン	86.9	± 1.47	50.8 ± 0.36	△41.6
佐賀1号	103.8	± 1.02	55.5 ± 0.51	△46.5
佐賀8号	94.2	± 0.56	52.2 ± 0.81	△44.6
クロスサビ	98.7	± 0.91	59.9 ± 0.54	△39.3
青芽	102.6	± 0.79	55.1 ± 0.82	△46.3
佐賀5号	97.3	± 0.54	54.3 ± 0.55	△44.2
水呑	102.4	± 0.67	55.2 ± 0.57	△46.1
しあわせ1号	104.5	± 0.77	56.5 ± 0.80	△46.0
女川スサビ	85.7	± 0.62	55.1 ± 0.47	△35.7
フタマタスサビノリ	99.9	± 1.78	62.0 ± 1.16	△38.0
野間	92.7	± 0.53	52.8 ± 0.69	△43.0
熊本漁連3号	99.6	± 0.85	57.2 ± 1.50	△42.6
湯ノ浦	93.3	± 2.33	57.9 ± 1.07	△37.9
福岡1号	105.0	± 0.93	58.3 ± 1.29	△44.5
ZX-1	89.3	± 0.81	54.1 ± 0.44	△39.4

## 文 献

- 大山憲一・吉松定昭・本田恵二・安部享利・藤沢節茂 (2008) 2005年2月に播磨灘から備讃瀬戸に至る香川県沿岸で発生した大型珪藻 *Chaetoceros densus* のブルーム：発生期の環境特性とノリ養殖への影響. 日水誌 74(4): 660-670.
- 川口 修・高辻英之 (2010) 広島県東部海域における溶存態無機窒素動態とノリ色落ちへの影響. 日水誌, 76(5): 849-854.
- 白石日出人 (2010) ノリ葉体の色調変化に関する研究. 福岡県水産海洋技術センター研究報告, 20: 131-134.
- 日本水産資源保護協会 (1980) : 昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのり).
- 日本水産資源保護協会 (1981) : 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法).
- 藤澤邦保・小橋啓介・野坂元道 (1999) 牛窓ノリ養殖場におけるノリの色素量変化と水質環境について. 岡山水試報, 14: 4-7.

付表1 黒み度とL値の変化

品種名	黒み度±標準誤差		L値±標準誤差	
	開始時	終了時	開始時	終了時
U-51	46.5±0.3	26.1±0.2	48.4±0.3	71.8±0.2
スサビ緑芽	35.3±0.4	22.1±0.3	61.4±0.3	75.7±0.3
有明1号	40.9±2.3	24.6±1.7	53.3±2.9	73.0±2.1
大牟田1号	44.3±0.8	24.5±1.8	47.9±1.9	73.4±2.1
アオクビ	39.6±1.6	22.6±1.6	54.4±1.9	74.9±2.4
オオバグリーン	36.8±2.8	21.5±0.7	59.5±3.1	76.5±0.7
佐賀1号	48.2±0.5	25.8±0.2	45.4±0.6	72.1±0.3
佐賀8号	39.8±1.1	22.1±1.5	53.6±1.2	76.1±2.1
クロスサビ	41.7±1.7	22.4±1.0	52.6±2.6	76.0±1.1
青芽	47.7±0.4	25.6±0.4	47.9±0.5	72.2±0.4
佐賀5号	45.2±0.3	25.2±0.3	49.0±0.5	72.9±0.3
水呑	47.6±0.3	25.6±0.3	48.5±0.4	72.2±0.3
しあわせ1号	48.5±0.4	26.2±0.4	46.9±0.3	71.6±0.4
女川スサビ	39.8±0.3	25.6±0.2	57.5±0.4	72.7±0.2
フタマタスサビノリ	46.4±0.8	28.8±0.5	49.4±1.2	69.3±0.6
野間	43.1±0.2	24.5±0.3	52.2±0.4	74.0±0.4
熊本漁連3号	46.3±0.4	26.6±0.8	47.3±0.6	71.5±0.9
湯ノ浦	43.4±1.1	26.9±0.5	51.4±1.8	71.1±0.6
福岡1号	48.8±0.9	27.1±0.6	44.5±0.8	71.4±0.7
ZX-1	41.5±0.4	25.1±0.2	54.9±0.6	73.3±0.2

付表2 a値とb値の変化

品種名	a値±標準誤差		b値±標準誤差	
	開始時	終了時	開始時	終了時
U-51	18.1±0.5	8.4±0.3	13.9±0.1	15.5±0.1
スサビ緑芽	-4.7±0.2	-4.3±0.2	19.6±0.3	17.9±0.1
有明1号	16.9±3.9	7.3±1.7	18.6±2.9	17.0±2.7
大牟田1号	20.3±2.6	7.8±1.6	19.2±4.3	15.8±1.6
アオクビ	17.2±4.5	6.6±1.1	18.9±4.6	17.8±4.0
オオバグリーン	8.9±2.8	3.5±2.0	19.1±1.4	17.1±1.7
佐賀1号	19.5±0.3	8.1±0.3	15.2±0.3	15.3±0.4
佐賀8号	22.5±0.7	8.3±1.3	15.5±1.7	14.5±2.1
クロスサビ	19.8±2.2	8.0±0.3	14.9±0.6	13.8±0.7
青芽	15.0±0.3	6.1±0.1	14.4±0.1	17.0±0.2
佐賀5号	16.9±0.5	7.1±0.1	17.4±0.3	14.9±0.0
水呑	14.1±0.3	5.8±0.2	14.0±0.2	16.8±0.1
しあわせ1号	15.3±0.3	5.7±0.3	14.5±0.1	16.7±0.2
女川スサビ	11.7±0.9	5.7±0.4	13.0±0.2	14.9±0.2
フタマタスサビノリ	14.8±1.0	7.8±0.7	13.1±0.2	13.8±0.5
野間	19.0±0.3	7.8±0.2	12.3±0.1	12.4±0.2
熊本漁連3号	21.9±0.3	9.6±0.7	12.8±0.1	13.0±0.2
湯ノ浦	16.4±1.9	8.1±0.9	13.9±0.2	14.1±0.5
福岡1号	21.8±0.6	8.8±0.5	12.5±0.1	11.4±0.2
ZX-1	15.9±0.9	8.2±0.5	11.4±0.3	12.5±0.2

### 3-9. 壺状菌病耐性

山田秀樹・横尾一成・藤武史行・三根崇幸・久野勝利

壺状菌病は、全国のノリ養殖漁場において毎年のように発生し、年によっては、深刻な被害を及ぼしている（藤武・久野 2009）。本病原菌は、病害防除法として一般的に実施されている乾燥冷凍および酸処理に対して耐性を有するため、本病の効果的な防除法がないのが現状である。このため、本病の被害を軽減するためには、本病に耐性を示す品種（以下、壺状菌病耐性品種）の開発が重要であり、そのためには本病の耐性を正確に評価する必要がある。これまで壺状菌病耐性の評価方法に関しては、昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書で示されているものの、この方法では、本病原菌の感染濃度が明確でなかったことなどから正確に評価することが困難であった。そこで、本章では室内培養試験によるノリ養殖品種の簡便な耐病性評価手法を開発することを目的とする。

壺状菌病耐性の評価にあたっては、U-51 を基準として用い、U-51 との比較による相対的な数値で示した。なお、壺状菌病に対する U-51 の耐性は、今回用いた 20 品種の中では中程度であり、対照品種として適当であると考えられる。

#### 壺状菌病

壺状菌病は、卵菌綱，フクロカビモドキ目，フクロカビモドキ科，フクロモドキ属の一種である *Olpidiopsis porphyrae* がノリ葉状体に感染して起こる病気である（右田 1969, Sekimoto *et al.* 2008）。本病になると葉状体は緑色に変色し、さらに症状が進行すると白く脱色して養殖網から脱落する。本病原菌の生活環については図 1 に示す通り、葉状体への感染後の形態は明らかになっているものの、それ以外の生態については分かっていない。

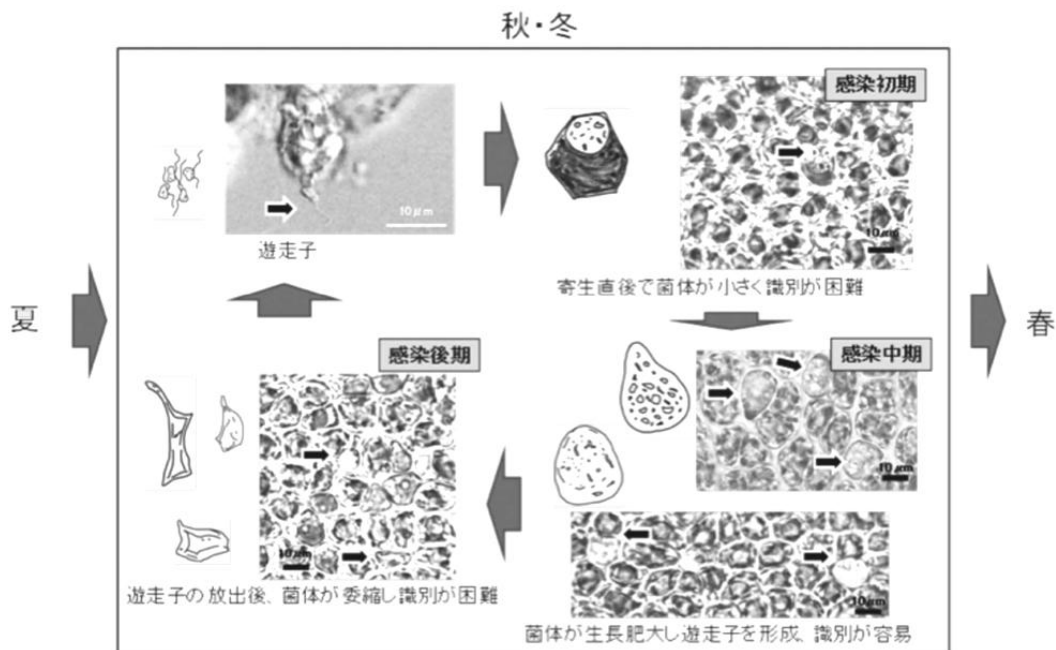


図 1 壺状菌病原菌の生活環 スケール 10 μm



## 方 法

葉長 2～3 cm 培養葉状体を用い、これに壺状菌の遊走子を添加し、その後の感染の程度を調べるといった手順で行った。詳細な内容については以下に示すとおりである。

**葉状体の培養** 評価品種および U-51 の葉状体の培養は図 2 に示す特注の 1ℓ フラスコに有明海佐賀県海域の沖合から採取した海水の塩分を 30 (psu) に調整したものをベースにした 1/2 SWM-Ⅲ 改変培地（以下培養海水）を用いた。培養条件は、水温が 18℃、光周期が明期 11 時間：暗期 13 時間、光強度が  $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  とした（以下、基本的培養条件）。培養期間は、葉状体の葉長がそれぞれの品種で 2～3 cm になるまでとした。

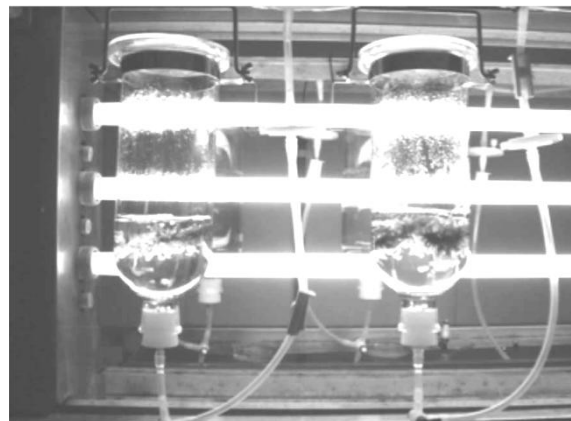


図 2 葉状体培養に用いた特注の 1ℓ フラスコ

**供試した壺状菌病原菌株** 壺状菌病原菌は菌体の純粋培養技術が確立されていないため、佐賀県漁場で採集した罹病葉状体を乾燥後に冷凍保存したものをを用いた。

**壺状菌病原菌遊走子の懸濁液作出方法の検討** 遊走子懸濁液は、図 3 で示す通り、壺状菌病の感染被度が異なる葉状体（光学顕微鏡 1 視野（ $\times 400$  倍；直径  $390 \mu\text{m}$ ）あたり 10～50 個、50～100 個、および 100～200 個）を酸処理（pH 2.2, 1 分間）した後、海水 100ml 入りの枝付培養フラスコに入れ、4 時間通気培養して得た。遊走子の濃度は、培養 1 時間毎に海水を採取し、プランクトン計数板を用いて計数した。遊走子の確認は、光学顕微鏡（ $\times 200$  倍）下で、大きさ、鞭毛の有無、および運動性の有無により行った。各試験区の海水中の遊走子数を計数した結果を表 1 に示す。感染被度が 10～49 個および 50～99 個の葉状体では、いずれも海水中に遊走子を確認することができなかった。一方、感染被度が 100～200 個の葉状体では、培養 4 時間後に遊走子が確認され、その数は 2000 個/ml 以上であった。このことから、感染被度が 100～200 個の葉状体を 4 時間通気培養することで、遊走子を採集できるものと考えられた。

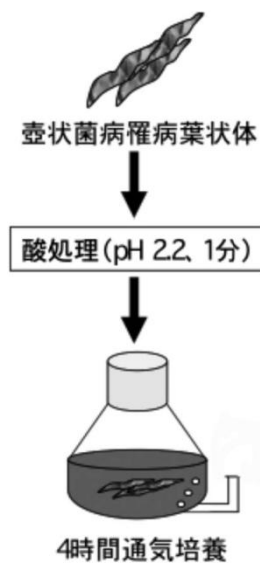


図 3 壺状菌病原菌遊走子の懸濁液作出方法

表 1 感染被度別葉状体における遊走子観察の有無

感染被度(個/視野)	培養時間			
	1h	2h	3h	4h
10~49	—	—	—	—
50~99	—	—	—	—
100~200	—	—	—	+

— : 未放出, + : 放出

**耐病性評価試験の培養時間および壺状菌病原菌遊走子の添加濃度の検討** 試験には、室内培養で葉長 2~3 cm まで生長させたスサビノリ佐賀 5 号を用いた。この葉状体を海水 20ml の入った三角フラスコにそれぞれ 3 枚入れた後、遊走子を終濃度が 100 個/ml, 1000 個/ml および 10000 個/ml となるように添加し、CRADLE-SHAKER (ATTO 社製) で緩やかに攪拌培養した。培養時間は、24, 48, および 72 時間とし、培養後に光学顕微鏡 (×200 倍; 直径 770 μm) 1 視野あたりの感染細胞数を計数した。

その結果、培養 24 時間では感染初期の細胞が多く観察されノリの正常な細胞との識別が困難であった。培養 48 時間後では、成熟した球形の菌体が認められる感染中期の細胞が多く観察され、ノリの正常な細胞との識別が容易であった。ただし、まれに遊走子放出後である感染後期の細胞が観察された。培養 72 時間後では、感染後期の細胞や感染初期の細胞が多く観察され識別が困難であった。培養 72 時間後に観察された感染初期の細胞は、遊走子放出後の細胞が観察されたことから、2 次感染した細胞であると推察された。よって、感染段階をノリの正常な細胞との識別が容易な感染中期にそろえ、感染細胞数を正確に計数するためには、培養時間を 48 時間よりやや短くすることが良いと考えられた。次に、培養 48 時間後の感染細胞数を遊走子の濃度別に比較すると、100 個/ml では 1 視野あたり数個~30 個程度、1000 個/ml ではそれぞれ 30~100 個、10000 個/ml ではほぼ全ての細胞が感染し計数困難となった。よって、耐病性評価試験における遊走子の添加濃度は 100 個/ml が適切であると考えられた。以上のことから、耐病性評価試験方法は添加濃度 100 個/ml とし、培養時間は 48 時間より短い 42 時間とした。また、識別が困難な初期感染の細胞を減らすために 24 時間培養時に 1 度、換水することとした。

**壺状菌病耐性の評価試験** 壺状菌病耐性の評価手法を図 4 に示す。試験には、室内培養で葉長 2~3cm まで生長させた評価品種の計 19 株と対照品種の U-51 を用い、基本的培養条件で行った。これらの葉状体を培養海水 20ml の入った三角フラスコにそれぞれ 3 枚入れた後、遊走子を終濃度が 100 個/ml となるように添加し、CRADLE-SHAKER で緩やかに攪拌培養した。24 時間培養後に葉状体を取り出し、新しい培養海水 20ml で同様に培養した。さらに 18 時間培養後、葉状体 1 枚あたり中央部 5 視野 (光学顕微鏡: ×200 倍) を観察し、1 視野あたりの感染細胞数を計数した。試験は、品種ごとに 3 回行い、得られた結果の平均値をその品種の感染細胞数とした。壺状菌病耐性の評価は、U-51 (対照品種) の感染細胞数を 1 としたときの相対指数 (壺状菌病相対感染指数) を用いて行った。

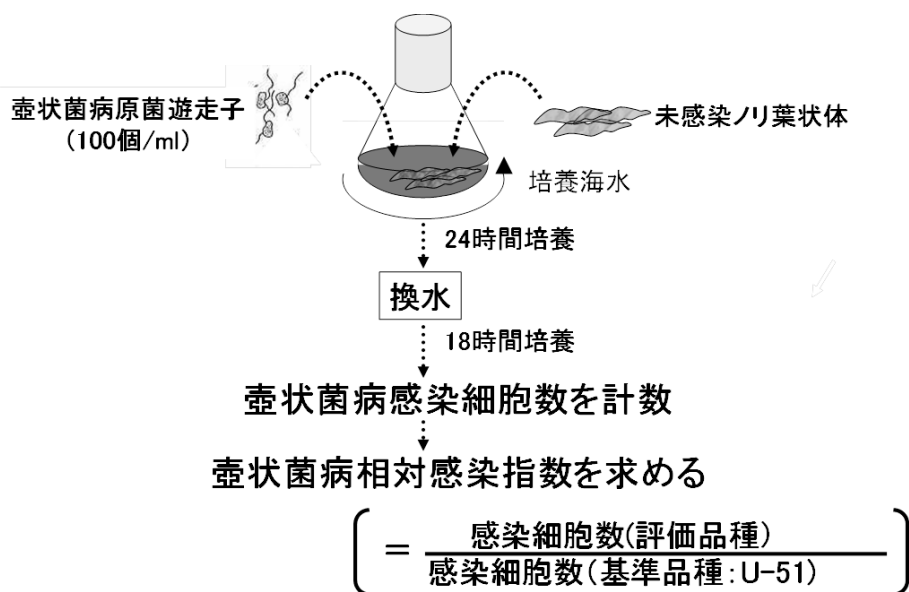


図4 壺状菌病耐性の特性評価方法

### 結果および考察

各品種の壺状菌病相対感染指数を図5に示す。品種間における壺状菌病相対感染数の平均と標準誤差はアオクビ  $0.34 \pm 0.06$ 、青芽  $0.93 \pm 0.05$ 、有明1号  $0.73 \pm 0.14$ 、大牟田1号  $0.29 \pm 0.12$ 、オオバググリーン  $0.50 \pm 0.13$ 、女川ササビ  $0.56 \pm 0.06$ 、熊本漁連3号  $1.43 \pm 0.23$ 、クロスササビ  $1.03 \pm 0.20$ 、佐賀1号  $0.74 \pm 0.21$ 、佐賀5号  $0.90 \pm 0.26$ 、佐賀8号  $1.18 \pm 0.07$ 、しあわせ1号  $1.22 \pm 0.02$ 、ササビ緑芽  $1.01 \pm 0.30$ 、ZX-1  $2.25 \pm 0.37$ 、野間  $0.83 \pm 0.16$ 、福岡1号  $0.93 \pm 0.18$ 、フタマタササビノリ  $0.44 \pm 0.07$ 、水呑  $1.35 \pm 0.07$ 、湯ノ浦  $1.36 \pm 0.29$  であった。壺状菌病相対感染数の評価品種間における値の平均値は  $0.29 \sim 2.25$  であり、1より大きく、壺状菌病耐性がU-51より弱いと考えられる品種が8品種、1より小さく、U-51より強いと考えられる品種が11品種であった。そのうち、ZX-1のみ有意に他19種と差が見られた (Tukey HSD 検定,  $p < 0.05$ )。

アンケート調査で既存品種等の特性を調べた昭和54年度種苗特性分類調査報告書には、壺状菌病耐性についてオオバググリーンは強く、他の既存品種と佐賀5号はすべて中であると記載されている。オオバググリーンは今回の試験結果においても壺状菌病相対感染数が小さく壺状菌耐性が強いと考えられた。

これまで昭和55年度種苗特性分類調査報告書に則った野外養殖試験による壺状菌病耐性評価は、壺状菌病耐性は感染濃度が明確でないなどから評価が困難であった。本章では、室内培養試験による壺状菌病耐性の評価手法について開発し、供試した19品種について、U-51に対する相対的な耐病性を数値化し、その差異を評価することができた。従って、本手法は品種間の耐病性の比較を行う有効な手段であると考えられる。今後、今回評価した19品種以外でも評価を進め、壺状菌病への耐性が大きい品種を更に探索することが求められる。また、本手法は、壺状菌病耐性を持つ品種作出時の有効な指標になるものと考えられる。

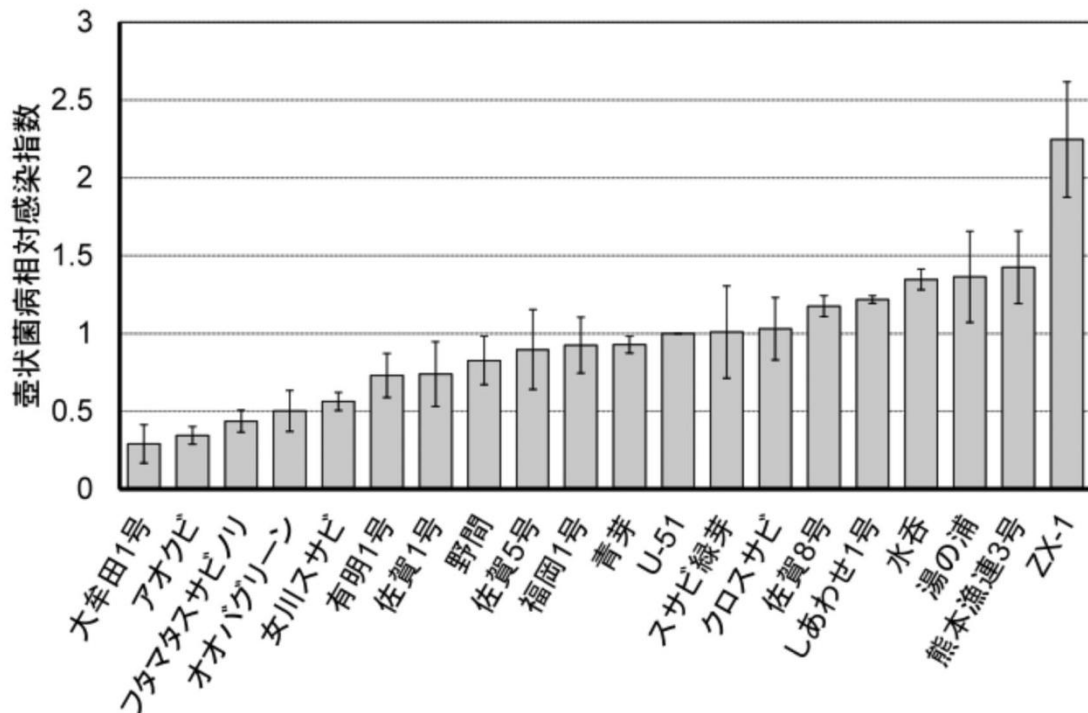


図5 壺状菌病相対感染指数 (20 品種)

## 文 献

- Sekimoto S., K. Yokoo, Y. Kawamura, and D. Honda, (2008) :Taxonomy, molecular phylogeny, and ultrastructural morphology of *Olpidiopsis porphyrae* sp. nov. (Oomycetes, straminipiles), a unicellular obligate endoparasite of *Bangia* and *Porphyra* spp. (Bangiales, Rhodophyta). *Mycological Research*, 112, 361-374.
- 日本水産資源保護協会 (1980) :昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのり). 日本水産資源保護協会, 東京. 173pp.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- 藤武史行・久野勝利 (2009) :有明海 (佐賀県) における養殖ノリの病害の発生. *海洋と生物*, 185, 637-638.
- 右田清治 (1969) :養殖アマノリの壺状菌病について. *長崎大学水産学部研究報告*, 24, 131-145.

付表1 壺状菌病相対感染数(20品種)

試験回数	品種名				
	U-51	アオクビ	青芽	有明1号	大牟田1号
1	1.00	0.46	0.98	0.97	0.48
2	1.00	0.28	0.82	0.48	0.33
3	1.00	0.30	0.99	0.75	0.06
平均	1.00	0.34	0.93	0.73	0.29

試験回数	品種名				
	オオバグリーン	女川スサビ	熊本漁連3号	クロスサビ	佐賀1号
1	0.76	0.63	1.80	1.22	0.94
2	0.32	0.45	1.21	1.24	0.96
3	0.43	0.61	1.26	0.63	0.32
平均	0.50	0.56	1.43	1.03	0.74

試験回数	品種名				
	佐賀5号	佐賀8号	しあわせ1号	スサビ緑芽	ZX-1
1	1.41	1.29	1.21	0.50	2.77
2	0.67	1.05	1.18	1.00	1.53
3	0.62	1.19	1.27	1.53	2.45
平均	0.90	1.18	1.22	1.01	2.25

試験回数	品種名				
	野間	福岡1号	フタマタスサビノリ	水呑	湯ノ浦
1	0.87	1.16	0.30	1.25	1.70
2	1.07	1.04	0.49	1.47	1.61
3	0.54	0.57	0.53	1.32	0.78
平均	0.83	0.93	0.44	1.35	1.36

### 3-10. あかぐされ病耐性

岩出将英・坂口研一

ノリのあかぐされ病は、全国のノリ漁場において毎年のように発生し、ノリの生産量の減少やノリ製品の品質低下の原因となり(秋山 1973)、一般的にはノリ養殖を行う上で最も被害が大きい病気であると考えられている。養殖に使用する品種について、あかぐされ病耐性の強弱を数値により判断し、ノリ養殖品種のあかぐされ病耐性を適切に評価できれば、あかぐされ病の蔓延しやすい漁場や時期において耐性に優れた品種を用いることが可能となる。

昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書にはあかぐされ病の室内培養試験の要領が記載されているが、遊走子を添加後感染が初認されるまでの時間と感染細胞数に基づく感染速度が判定基準となっている。両基準とも菌糸の伸長速度に関連しており、感染後の拡大の速さについて品種間の違いを調べるには有効であるが、感染に対する抵抗力の違いを調べるには十分な方法とは言えない。また、昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書記載されているのはすべての既存品種が「中」というアンケート調査による集計結果だけである。

本章では、感染への抵抗力という観点から感染箇所数の調査を加え新たに開発したノリのあかぐされ病耐性の評価手法と、その手法を用いて調べた各品種の耐性について記述する。あかぐされ病耐性の評価にあたっては、U-51 を基準として、U-51 との比較による相対的な数値で示した。なお、あかぐされ病に対する U-51 の耐性は、今回用いた 20 品種の中では中程度であり、対照品種として適当であると考えられる。

#### あかぐされ病

あかぐされ病は卵菌類のあかぐされ病原菌 (*Pythium porphyrae*) によって引き起こされる病気であり、海水中のあかぐされ病原菌遊走子(図 1 b 参照)は葉状体表面に付着すると発芽管(図 1 d 参照)を出して細胞内に進入し、そこから隣接する細胞を次々と貫通しながら菌糸が生長していく(坂口 2005)。この菌はノリの細胞内容を栄養として摂取することで生長し(佐藤・佐々木 1973)、菌糸に貫通された細胞は死滅する(秋山 1973)。病症が進むと死滅したノリの細胞に含まれる色素の遊離によって、葉状体に赤さび色の斑点を生ずることからあかぐされ病と名付けられた。

#### 方 法

実験は、ノリ葉状体から打ち抜いたディスクを用いて、これにあかぐされ菌の遊走子を添加し、その後のディスクへの感染の程度を調べるという手順で行った。詳細な内容については以下で説明するが、概要については付図 1, 2 に示した。

**ノリ葉状体ディスクの選別** 葉状体培養は、10枝付培養フラスコを用いて、三重県水産研究所鈴鹿水産研究室がある鈴鹿市の沿岸から採取した海水の塩分を 30(psu)に調整した 1/2SWM-III 改変培地により行った。培養条件は、水温 18°C、光周期は明期 11 時間：暗期 13 時間、光強度は  $60 \mu \text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$  の基本的培養条件に設定した。評価品種と U-51 を同培養条件下で 3 週間培養し、顕微鏡観察によって死細胞や成熟誘導している細胞が無いことを確認したあと、ノリ葉状体中央部から生検トレパンを用いて直径 1mm のノリ葉状体ディスクを 20 枚以上打ち抜き、基本的培養条件下で 1 日間回復培養を行った。評価試験当日にノリ葉状体ディスクをスライド

ガラス上で検鏡し、死細胞や成熟誘導している細胞が無いものを5枚選別した。

**使用したあかぐされ病原菌株** 感染に用いた菌株は、三重県伊勢市大淀地先のノリ養殖場においてあかぐされ病に罹病した養殖ササビノリ品種から分離し、トウモロコシ煎汁寒天に半海水を加えたCMSA培地（佐々木・佐藤 1969）へ植継ぎ保存したものを使用した。

**あかぐされ病原菌遊走子の懸濁液作出** 10の三角フラスコに抗生物質無添加の新崎B培地

（Arasaki *et al.* 1968）を700ml入れ、その中に植継ぎ保存していたあかぐされ病原菌培養CMSA培地を1cm角に切り取ったもの5片入れ、20°Cで5日間培養した。評価試験当日に培養液を30 $\mu$ mナイロンメッシュでろ過し、メッシュ上の菌体のみを塩分15(psu)に調整した半海水700mlに入れ、ロータリーシェイカーを用いて120rpmで振とうしながら、菌体の洗浄を開始した。その後、1, 2, 4, 6時間後に菌体を新たな半海水700mlに移すことにより合計5回の洗浄を行った。最後の洗浄時に検鏡により多量の遊走子を放出し始めていることを確認し、既に放出されている遊走子を取り除くため30 $\mu$ mナイロンメッシュ上で菌体を半海水により十分に洗浄した。最後に50ml遠沈管に30ml入れた半海水中に菌体を懸濁し、さらに30分間振とうを行った後、遊走子を30 $\mu$ mナイロンメッシュで分離し、遊走子原液を得た。遊走子原液1.0mlに2%グルタルアルデヒド半海水を同量加えて遊走子を固定し、トーマ血球算定盤で3回計数して遊走子濃度を算定したのちに、遊走子濃度が3,000個/mlになるように遊走子原液を半海水で希釈して半海水遊走子液を調整した。

室内培養で得られるあかぐされ病原菌遊走子は、菌糸上に形成された球嚢から放出された直後は高い運動性を持つが、間もなく停止し、球形に変形した後、発芽して菌糸として生長を始める（図1）。あかぐされ病原菌についての菌の取り扱い方法や遊走子の形成・放出・感染などについては、数多くの報告がなされている（佐々木・桜井 1972, 加藤ら 1973, 桜井ら 1974, 藤田 1978）。例えば、藤田（1978）は、ノリ葉状体の培養培地にあかぐされ病卵胞子を接種することによって、ノリ葉状体にあかぐされ病の感染による死細胞が観察されるのに4日間かかり、視覚的にノリ葉状体上に病斑を確認できるまでに10日間必要であったと報告している。また、新崎B寒天培地上で生育させた菌糸体を寒天培地ごと細かく砕いて一定期間、海水等に浸漬させたのち別の培地へ浸漬することで遊走子を得る方法（押しつぶし浸漬処理）により、比較的短時間に遊走子を得ることができたという報告もある（桜井ら 1974）。この方法では、まず海水等への浸漬に8日必要とされており、別培地へ浸漬してから遊走子の放出に要した時間は早いもので8時間、放出された遊走子数については、少量と報告されている。しかしながら、ノリ葉状体に感染させるために必要な遊走子量やその状態について吟味されている報告は乏しい。評価試験に用いるあかぐされ病原菌遊走子については、①感染時に十分な運動速度を維持していること②半海水遊走子液の濃度調整での測定誤差を少なくするため、多量の遊走子を得られること③遊走子の固定時に破壊や変形等をもたらさないこと④短期間で確実に遊走子を得ることが可能であることが必要条件となる。本研究では、感染用遊走子の採取方法として、富栄養半海水培地から直接、貧栄養半海水培地へ菌体を移行させ洗浄

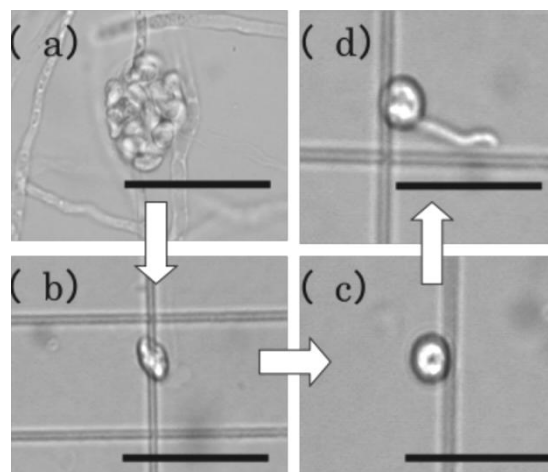


図1 時間経過に伴う遊走子の形態変化.

- (a) 球嚢
- (b) 球嚢から放出された遊走子
- (c) 運動が停止し球形に変形した遊走子
- (d) 発芽した遊走子

を繰り返し、最終的に少量の半海水中で放出を促す方法により、7時間程度で活性の高い遊走子を1mlあたり $10^7$ 個程度得ることができ、安定的に実験を行うことが可能になった。

**あかぐされ病原菌遊走子の添加量の検討** 特性評価試験に用いるあかぐされ病原菌遊走子の添加量の検討では、評価品種別の耐性を正確に評価するために、次の2点について留意しなければならない。つまり、①ノリ葉状体ディスクの単位面積あたりの感染箇所が少ないと評価品種間の耐性評価に関するデータが少なくなり信頼性が低下する。②ノリ葉状体ディスクの単位面積あたりの感染箇所が多すぎると感染箇所同士の融合が起こる可能性が高くなり、正確な評価ができなくなる。以上のことを考慮し、感染させるノリ葉状体に対する適切な遊走子の添加濃度について検討を行った結果、あかぐされ病への耐性の評価にあたっては、プラスチックシャーレ1枚あたり遊走子を30,000個添加して実験を行うことにした。添加量の検討についての詳細は以下の通りである。

U-51のノリ葉状体ディスクが5枚入った直径6cmのプラスチックシャーレを5つ準備し、そこにそれぞれあかぐされ病原菌遊走子が1,000個、5,000個、10,000個、20,000個、30,000個入った10mlの半海水を加え、15分間静置することでノリ葉状体ディスクへの感染を行った。その後、10mlの半海水、続いて10mlの1/2SWM-III改変培地へノリ葉状体ディスクを移動させることにより洗浄し、基本的培養条件下で24時間静置培養を行い、ノリ葉状体ディスク上の感染箇所数について調べた。

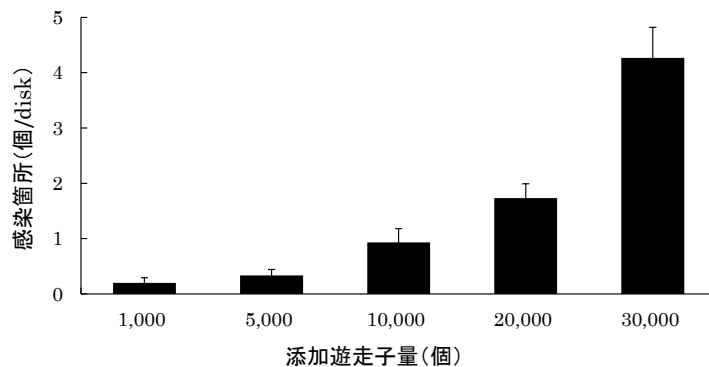


図2 あかぐされ病原菌遊走子の添加量による感染箇所数の変化 (平均値±標準誤差)。

U-51のノリ葉状体ディスク1枚あたりの感染箇所数(平均値±標準誤差)は、感染用遊走子量が1,000個では $0.20 \pm 0.09$ 箇所/disk、5,000個では $0.33 \pm 0.11$ 箇所/disk、10,000個では $0.93 \pm 0.25$ 箇所/disk、20,000個では $1.73 \pm 0.26$ 箇所/disk、30,000個では $4.27 \pm 0.55$ 箇所/diskであった(図2)。各品種のノリ葉状体ディスクへの感染箇所数を比較するには、感染箇所が少なすぎる場合も多すぎる場合も難しくなるが、遊走子を30,000個添加した場合の4箇所程度が感染箇所の比較には適当である。

**評価品種別のあかぐされ病耐性比較試験** 選別した評価品種とU-51のノリ葉状体ディスクをそれぞれ5枚用意し、直径6cmのプラスチックシャーレに品種ごとに別々に入れ、そこに調整した半海水遊走子液を10ml(あかぐされ病原菌遊走子の含有数は、30,000個)加え、15分間静置することでノリ葉状体ディスクへの感染を行った。次に10mlの半海水、続いて10mlの1/2SWM-III改変培地へノリ葉状体ディスクを移動させることにより洗浄し、基本的培養条件下で24時間静置培養を行った。培養後、ノリ葉状体ディスク上の感染箇所数および感染細胞数を光学顕微鏡(400倍)で計数した。あかぐされ病耐性比較試験は、3期に分けて(1期目:佐賀8号,大牟田1号,有明1号,クロスサビ,オオバグリーン,アオクビ,2期目:佐賀1号,佐賀5号,水呑,青芽,ササビ緑芽,しあわせ1号,3期目:女川ササビ,野間,熊本漁連3号,



湯の浦, 福岡 1 号, ZX-1, フタマタスサビノリ) 実施し, 1 評価品種につき, 合計 6 回実施した。各品種のデータの評価については, 比較試験回次ごとの U-51 における感染箇所数および感染細胞数を基準とした相対指数を用いて行った。つまり, 評価品種間における感染箇所数の比較には, 5 枚のノリ葉状体ディスクの平均値から算出した評価品種のノリ葉状体ディスク 1 枚あたりの平均感染箇所数を, 同様に求めた U-51 のノリ葉状体ディスク 1 枚あたりの平均感染箇所数で除した「あかぐされ病相対感染箇所指数」を用いた。また, 評価品種間における感染後の 1 感染箇所あたりの平均感染細胞数の比較には, 5 枚のノリ葉状体ディスクの合計感染細胞数を合計感染箇所数で除して求めた評価品種 1 感染箇所あたりの平均感染細胞数を, 同様に求めた U-51 の 1 感染箇所あたりの平均感染細胞数で除した「あかぐされ病相対感染速度指数」を用いた。評価品種間におけるあかぐされ病耐性の比較には, 評価品種のノリ葉状体ディスク 1 枚あたりの平均感染細胞数を U-51 のノリ葉状体ディスク 1 枚あたりの平均感染細胞数で除した「あかぐされ病相対感染指数」を用いた。1 評価品種につき 6 回の評価試験を実施したので, この 6 回の試験のデータから更に平均値と標準誤差を求め, 各評価品種のそれぞれの指数とした。

あかぐされ病相対感染箇所指数＝

$$\text{ディスク 1 枚あたりの平均感染箇所数} / \text{U-51 ディスク 1 枚あたりの平均感染箇所数}$$

あかぐされ病相対感染速度指数＝

$$1 \text{ 感染箇所あたりの平均感染細胞数} / \text{U-51 の 1 感染箇所あたりの平均感染細胞数}$$

あかぐされ病相対感染指数＝

$$\text{ディスク 1 枚あたりの平均感染細胞数} / \text{U-51 ディスク 1 枚あたりの平均感染細胞数}$$

### 結果および考察

**評価品種間における感染箇所数の比較** 19 品種のうち 7 品種 (湯の浦, 野間, 福岡 1 号, ZX-1, 女川スサビ, クロスサビ, 有明 1 号) は, あかぐされ病相対感染箇所指数が 1 より小さく, U-51 よりあかぐされ病感染箇所数は少なかった (図 3)。特に, 「湯の浦」は, あかぐされ病相対感染箇所指数が  $0.80 \pm 0.06$  と最も小さかった。一方, スサビ緑芽, 水呑, 青芽, 佐賀 5 号, しあわせ 1 号の 5 品種は感染箇所指数が 4.0 以上と大きかった。

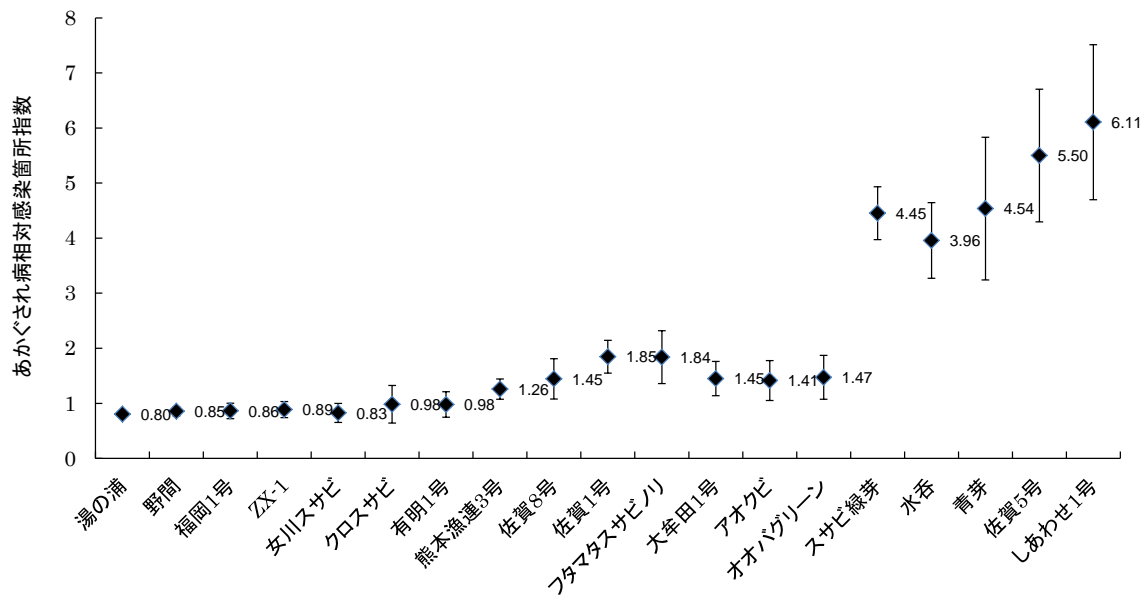


図3 評価品種のあかぐされ病相対感染箇所指数 (平均値±標準誤差).

**評価品種間における感染速度の比較** 19品種のうち7品種(湯の浦, 野間, 福岡1号, ZX-1, 佐賀1号, スサビ緑芽, しあわせ1号)は, あかぐされ病相対感染速度指数が1より小さく, U-51より1感染箇所あたりの平均感染細胞数は少なかった(図4)。特に, 「湯の浦」はあかぐされ病相対感染速度指数が $0.66 \pm 0.06$ と最も小さかった。一方, 「オオバグリーン」は指数が $1.84 \pm 0.22$ と最も大きかった。

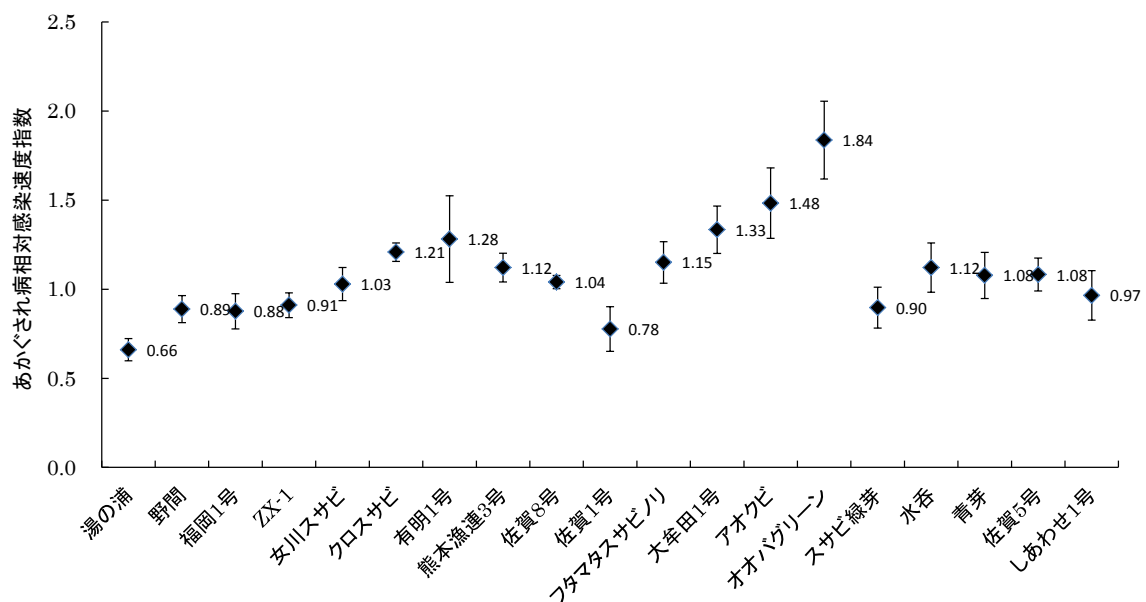


図4 評価品種のあかぐされ病相対感染速度指数 (平均値±標準誤差).

**評価品種間におけるあかぐされ病耐性の比較** 19品種のうち5品種(湯の浦, 野間, 福岡1号, ZX-1, 女川スサビ)は, あかぐされ病相対感染指数が1より小さく, U-51より1枚あたりの平均感染細胞数は少なかった(図5)。特に, 「湯の浦」はあかぐされ病相対感染指数が $0.52 \pm 0.08$ と最も小さく, あかぐされ病原菌に対する耐性が最も強いと考えられた。一方, 「しあわせ1号」は指数が $6.82 \pm 2.36$ と最も大きかった。

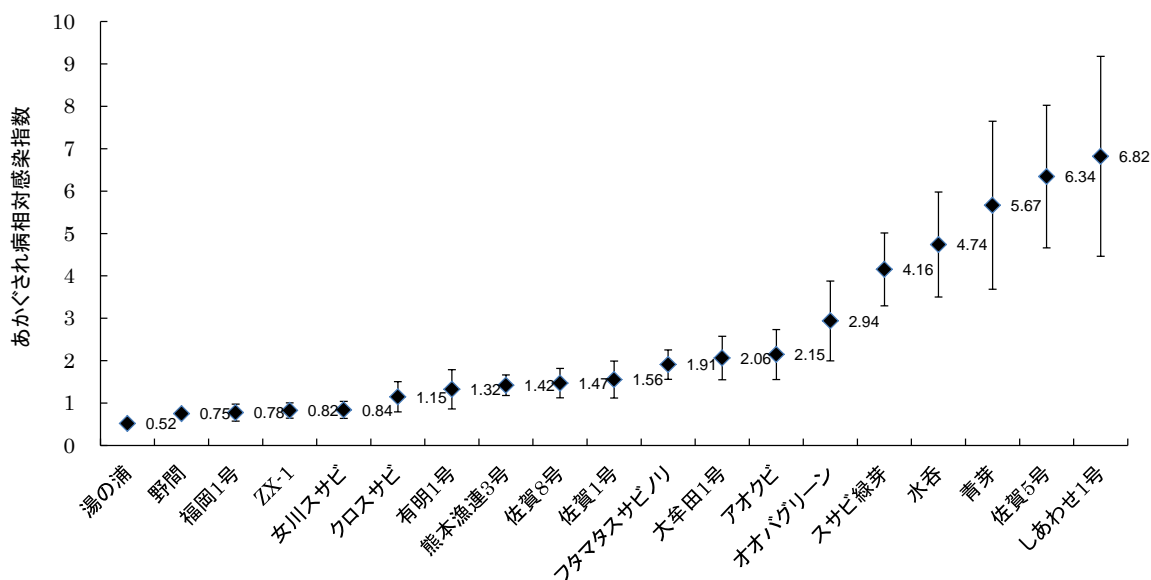


図5 評価品種のあかぐされ病相対感染指数 (平均値±標準誤差)。

本研究では, 室内培養試験によって簡便・迅速にノリ品種の特性を評価できる手法の開発を目的としており, 前述したあかぐされ病原菌遊走子の懸濁液作出法は, 7時間程度で運動性のある遊走子を多量に得ることができ, 評価試験に用いるあかぐされ病原菌の遊走子を確保する有効な手段と言える。

評価品種間における「あかぐされ病相対感染箇所指数」の平均値は0.80~6.11と品種間に7倍以上の差があったのに対して, 「あかぐされ病相対感染速度指数」の平均値は0.66~1.84となり品種間の差は小さかった。あかぐされ病は, 遊走子がノリ葉状体へ感染し, 細胞内へ侵入後, 菌糸をノリ細胞間隙・細胞壁を貫通して平面的に感染範囲を広げる(佐藤・佐々木 1973)。「あかぐされ病相対感染速度指数」に比べ, 「あかぐされ病相対感染箇所指数」について評価品種間で大きな差があったことから, ノリ品種のあかぐされ病に対する耐性の差異は, 遊走子がノリ葉状体に付着してから細胞壁を貫通して細胞内へ侵入する感染初期においてノリ品種間に差があることが要因になっていると示唆された。

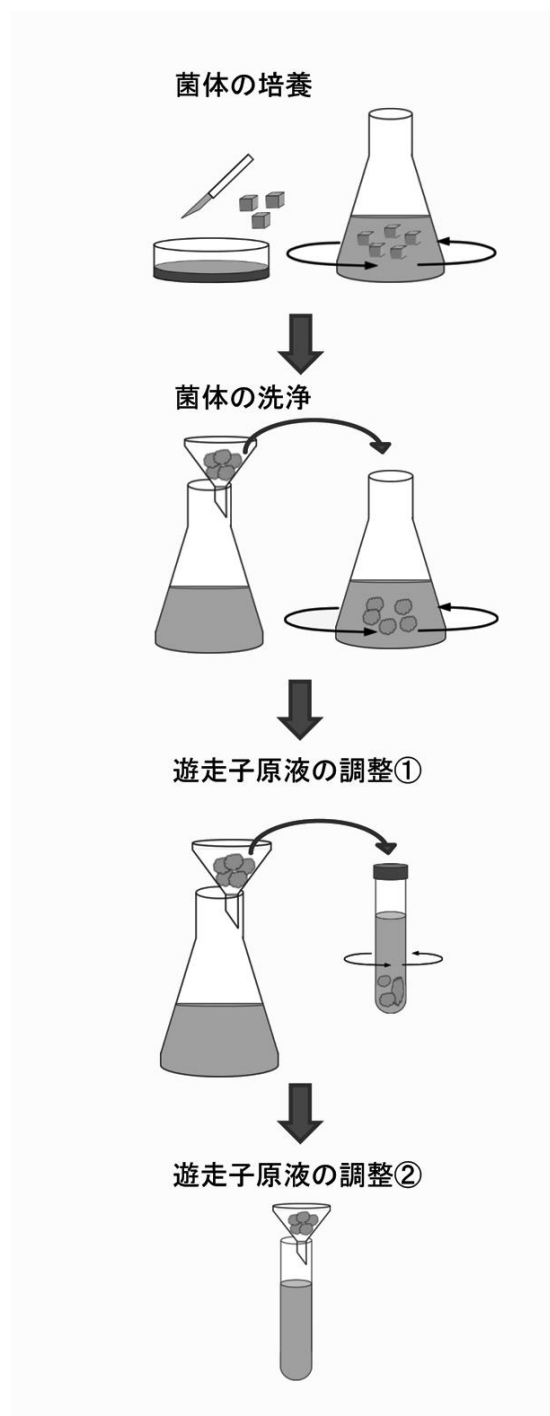
ノリ漁場における本病のノリ葉状体に対する感染や蔓延は, ノリ葉状体への感染箇所とノリ葉体内での感染速度が重要な要素となる。そのため, あかぐされ病耐性の品種特性評価手法として, 感染箇所と感染速度の要素を兼ね備えた「あかぐされ病相対感染指数」が有効と考えられる。「あかぐされ病相対感染指数」の評価品種間における指数の平均値は0.52~6.82であり, 評価品種間では, 13倍以上の差がみられた。あかぐされ病相対感染指数が1より小さい品種ではU-51よりあかぐされ病への耐性があり, 1より大きい品種はU-51よりは弱いと考えられる。本研究で供試された19品種については, U-51よりあかぐされ病耐性が強いと考えられ

るのは5品種で、あかぐされ病の蔓延しやすい漁場ではこれらの品種を用いてノリ養殖を行うことで、ノリ生産の安定化に結び付くことが期待できる。

本章では、あかぐされ病耐性の品種特性評価手法について開発し、評価品種19品種について、それぞれU-51に対して相対的な耐性について数値化することができた。本手法は、品種間の耐性の比較を行う有効な手法であり、今回評価した19品種以外でも評価を進め、あかぐされ病への耐性が大きい品種を更に探索することが求められる。また、本手法は、あかぐされ病への耐性の強さを目標とした育種を行う場合の有効なツールになるものである。ただし、あかぐされ病原菌については、生育環境要因、栄養要求性や生殖器官形成等において有明海で分離された菌株と東北産病原菌株では菌学的性状による差異が認められている(藤田・銭谷 1977)。また、同一海域で分離された菌株群においても菌糸の生長や有性繁殖器官形成等の形態に相違があったとの報告もあり(佐々木ら 1972)、菌株群によっては品種間に耐性の違いが生じる可能性も考え得るのでさらに調査を進めていく必要がある。また、試験回次間での数値のばらつきをより小さくし、正確に品種のあかぐされ病耐性の評価を行うためには、使用するノリ葉状体の栄養状態を常に良好に保ち、生長段階を一定にすること、あかぐされ病原菌については継代回数の制限やシャーレ内の保存・培養条件を一定にするなど、ノリ葉状体とあかぐされ病原菌の両者が健全な状態で評価試験を行うことが重要である。

## 文 献

- 秋山和夫 (1973) : あかぐされ病. 水産学シリーズ2 (のりの病気), 7-11.
- Arasaki, S., Akino, K., and Tomiyama, T. (1968) : A Comparison of some physiological aspects in marine *Pythium* on the host and on the artificial medium. *Bull. Misaki Marine Biol. Inst. Tokyo Univ.* **12**, 203-206.
- 加藤盛・渡辺競・佐藤陽一 (1973) : 養殖アマノリの疾病に関する研究—VII各地に発生する赤腐病病原菌の栄養生理と病原性について. 日水誌. **39** (8), 859-865.
- 坂口研一 (2005) 伊勢湾の養殖ノリにおける病障害発生の原因究明と軽減法に関する研究. 三重科技セ研報, 13, 1-55.
- 桜井保雄・秋山和夫・佐藤重勝 (1974) : ノリアかぐされ病菌の遊走子の形成・放出について. 東北水研研究報告. **33**, 119-127.
- 佐々木実・佐藤重勝 (1969) : ノリ赤腐病菌の培地組成と培養温度について. 東北水研研究報告. **29**, 125-132.
- 佐々木実・桜井保雄 (1972) : 各地のノリアかぐされ病菌株の生長比較. 東北水研研究報告. **32**, 83-87.
- 佐藤重勝・佐々木実 (1973) : あかぐされ病. 水産学シリーズ2 (のりの病気), 59-69.
- 日本水産資源保護協会 (1980) : 昭和54年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのり). 社団法人日本水産資源保護協会, 東京.
- 日本水産資源保護協会 (1981) : 昭和55年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 社団法人日本水産資源保護協会, 東京.
- 藤田雄二 (1978) : 有明海のり漁場から分離したあかぐされ病原菌 *Pythium* に関する研究—V. 日水誌. **44** (1), 15-19.
- 藤田雄二・銭谷武平 (1977) : 有明海のり漁場から分離したあかぐされ病原菌 *Pythium* に関する研究—II. 日水誌. **43** (1), 89-95.



10の三角フラスコに抗生物質無添加の新崎B培地を700ml入れ、その中に植継ぎ保存していたあかぐされ病原菌培養CMSA培地を1cm角に切り取ったもの5片入れ、ロータリーシェーカーを用いて緩やかに攪拌しながら20℃で5日間培養する。

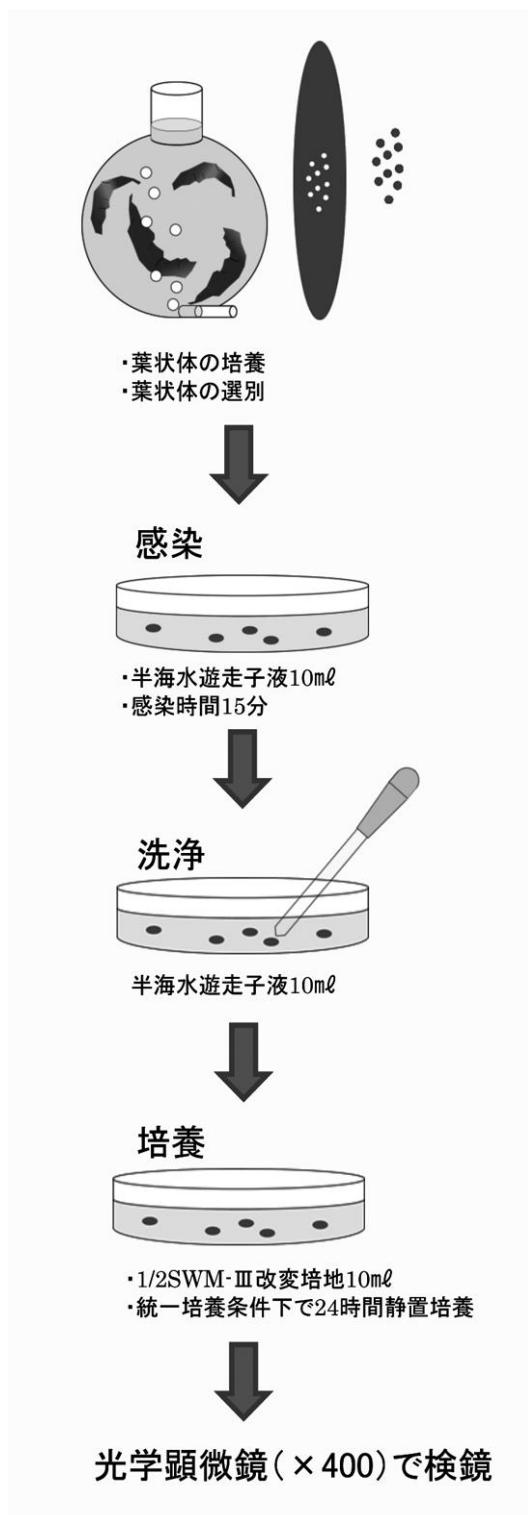
評価試験当日に培養液を30 $\mu$ mナイロンメッシュでろ過し、メッシュ上の菌体のみを塩分15psuに調整した半海水700mlに入れ、ロータリーシェイカーを用いて120rpmで振とうしながら、菌体の洗浄を開始する。その後、1、2、4、6時間後に菌体を新たな半海水700mlに移すことにより合計5回の洗浄を行う。

最後の洗浄時に検鏡により多量の遊走子を放出し始めていることを確認し、既に放出されている遊走子を取り除くため30 $\mu$ mナイロンメッシュ上で菌体を半海水により十分に洗浄する。最後に50ml遠沈管に30ml入れた半海水中に菌体を懸濁し、さらに30分間振とうを行う。

菌体を30 $\mu$ mナイロンメッシュで分離し、遊走子原液を得る。

遊走子原液1.0mlに2%グルタルアルデヒド半海水を同量加えて遊走子を固定し、トーマ血球算定盤で3回計数して遊走子濃度を算定したのちに、遊走子濃度が3,000個/mlになるように遊走子原液を半海水で希釈して半海水遊走子液を調整する。

付図1 遊走子原液の調整まで



評価品種と U-51 を基本的培養条件下で 3 週間培養する。

評価試験前日に顕微鏡観察によって死細胞や成熟誘導している細胞が無いことを確認する。

ノリ葉状体中央部から生検トレパンを用いて直径 1mm のノリ葉状体ディスクを 20 枚以上打ち抜く。基本的培養条件下で 1 日間回復培養を行う。

評価試験当日にノリ葉状体ディスクをスライドガラス上で検鏡し、死細胞や成熟誘導している細胞が無いものを 5 枚選別する。

選別した評価品種と U-51 のノリ葉状体ディスクをそれぞれ 5 枚用意し、直径 6cm のプラスチックシャーレに品種ごとに別々に入れ、そこに調整した半海水遊走子液を 10ml (あかぐされ病原菌遊走子の含有数は、30,000 個) 加え、15 分間静置することでノリ葉状体ディスクへの感染を行う。

次に 10ml の半海水、続いて 10ml の 1/2SWM-III 改変培地へノリ葉状体ディスクを移動させることにより洗浄する。

基本的培養条件下で 24 時間静置培養を行う。

培養後、ノリ葉状体ディスク上の感染箇所数および感染細胞数を光学顕微鏡 (×400) で計数する。

※シャーレ間のノリ葉状体ディスクの移動には、1ml の駒込ピペットを使用すると容易である。

付図 2 葉状体の培養から感染試験

付表1 あかぐされ病耐性の品種特性評価データ

## あかぐされ病相対感染箇所指数

試験回数	品種名									
	女川スサビ	野間	熊本漁連3号	湯の浦	福岡1号	ZX-1	フタマタスサビノリ	有明1号	佐賀8号	アオクビ
第1回	1.21	0.58	1.29	0.71	0.38	0.54	1.04	0.82	0.39	0.43
第2回	1.25	1.00	2.13	1.00	1.38	1.50	1.38	0.69	1.50	1.13
第3回	0.92	0.76	1.00	0.92	0.80	0.72	1.16	1.67	1.00	2.33
第4回	0.38	1.13	1.25	0.63	1.06	0.88	3.17	1.71	3.00	2.57
第5回	0.23	0.96	0.92	0.87	0.65	1.08	3.50	0.56	1.78	1.44
第6回	0.97	0.70	0.97	0.70	0.91	0.61	0.79	0.43	1.00	0.57
平均値	0.83	0.85	1.26	0.80	0.86	0.89	1.84	0.98	1.45	1.41
標準誤差	0.17	0.08	0.18	0.06	0.14	0.15	0.48	0.23	0.37	0.36

試験回数	品種名									
	クロスサビ	大牟田1号	オオバグリーン	佐賀1号	佐賀5号	水呑	青芽	スサビ緑芽	しあわせ1号	
第1回	0.50	0.39	0.71	1.63	3.88	2.88	3.00	3.75	3.75	
第2回	0.94	1.06	0.75	2.00	8.25	5.50	8.75	5.50	9.75	
第3回	0.33	2.33	2.33	3.25	9.00	6.50	7.25	5.75	10.75	
第4回	1.14	1.14	0.75	1.50	6.83	3.83	5.67	5.17	6.33	
第5回	2.56	2.33	3.00	1.44	3.38	2.50	1.69	3.69	3.25	
第6回	0.43	1.43	1.29	1.27	1.67	2.53	0.87	2.87	2.80	
平均値	0.98	1.45	1.47	1.85	5.50	3.96	4.54	4.45	6.11	
標準誤差	0.34	0.31	0.40	0.30	1.20	0.69	1.30	0.48	1.41	

## あかぐされ病相対感染速度指数

試験回数	品種名									
	女川スサビ	野間	熊本漁連3号	湯の浦	福岡1号	ZX-1	フタマタスサビノリ	有明1号	佐賀8号	アオクビ
第1回	1.26	0.81	1.13	0.69	0.92	1.12	1.64	0.65	1.07	0.78
第2回	0.88	1.09	1.20	0.90	1.24	1.11	1.20	0.85	1.08	1.20
第3回	0.72	0.98	1.27	0.53	0.78	0.68	1.15	1.34	1.19	1.80
第4回	0.90	0.72	0.91	0.59	0.52	0.85	0.99	1.87	0.97	1.31
第5回	1.26	0.65	0.86	0.49	0.79	0.87	0.78	0.89	0.96	1.67
第6回	1.16	1.07	1.35	0.75	1.00	0.84	1.15	2.10	0.98	2.14
平均値	1.03	0.89	1.12	0.66	0.88	0.91	1.15	1.28	1.04	1.48
標準誤差	0.09	0.08	0.08	0.06	0.10	0.07	0.12	0.24	0.04	0.20

試験回数	品種名									
	クロスサビ	大牟田1号	オオバグリーン	佐賀1号	佐賀5号	水呑	青芽	スサビ緑芽	しあわせ1号	
第1回	1.31	0.81	1.56	0.91	0.84	0.70	0.78	0.86	0.80	
第2回	1.28	1.28	1.35	1.05	1.43	1.24	1.41	1.11	1.49	
第3回	1.04	1.62	2.62	1.04	1.12	1.47	1.37	1.26	1.26	
第4回	1.22	1.26	1.35	0.89	1.12	1.29	1.26	0.60	0.93	
第5回	1.07	1.28	1.78	0.44	1.17	1.34	0.99	1.00	0.65	
第6回	1.34	1.75	2.35	0.34	0.82	0.69	0.65	0.56	0.66	
平均値	1.21	1.33	1.84	0.78	1.08	1.12	1.08	0.90	0.97	
標準誤差	0.05	0.13	0.22	0.13	0.09	0.14	0.13	0.11	0.14	

## あかぐされ病相対感染指数

試験回数	品種名									
	女川スサビ	野間	熊本漁連3号	湯の浦	福岡1号	ZX-1	フタマタスサビノリ	有明1号	佐賀8号	アオクビ
第1回	1.52	0.47	1.46	0.49	0.35	0.61	1.71	0.53	0.42	0.34
第2回	1.10	1.09	2.54	0.90	1.71	1.66	1.66	0.58	1.61	1.35
第3回	0.66	0.75	1.27	0.49	0.63	0.49	1.33	2.23	1.19	4.19
第4回	0.34	0.81	1.14	0.37	0.55	0.75	3.13	3.21	2.92	3.36
第5回	0.29	0.63	0.79	0.34	0.52	0.93	2.72	0.49	1.70	2.41
第6回	1.13	0.75	1.31	0.52	0.91	0.51	0.91	0.90	0.98	1.23
平均値	0.84	0.75	1.42	0.52	0.78	0.82	1.91	1.32	1.47	2.15
標準誤差	0.20	0.08	0.24	0.08	0.20	0.18	0.35	0.46	0.35	0.59

試験回数	品種名									
	クロスサビ	大牟田1号	オオバグリーン	佐賀1号	佐賀5号	水呑	青芽	スサビ緑芽	しあわせ1号	
第1回	0.65	0.32	1.12	1.48	3.27	2.01	2.35	3.21	3.01	
第2回	1.20	1.36	1.01	2.09	11.76	6.83	12.35	6.09	14.48	
第3回	0.35	3.77	6.12	3.37	10.05	9.56	9.94	7.25	13.59	
第4回	1.39	1.45	1.01	1.33	7.68	4.94	7.13	3.09	5.86	
第5回	2.73	2.98	5.35	0.64	3.95	3.34	1.67	3.69	2.11	
第6回	0.58	2.50	3.03	0.43	1.36	1.75	0.57	1.60	1.86	
平均値	1.15	2.06	2.94	1.56	6.34	4.74	5.67	4.16	6.82	
標準誤差	0.36	0.51	0.94	0.44	1.68	1.24	1.98	0.86	2.36	

### 3-11. 各特性の区分化（判断基準）

小林正裕・島田裕至・山本有司・岩出将英・渊上 哲  
・山田秀樹・松本聖治・藤吉栄次・玉城泉也

アマノリ類は、農林水産省が所管する品種登録制度に基づいて品種の育成者権（知的財産権）の保護対象となっており、平成 25 年 4 月 1 日現在で 12 品種が登録されている（うち、3 品種はすでに育成者権が消滅している）。品種登録においては、昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書（あさくのり、すさびのりの栽培試験法）に基づいて品種特性を調査することになっている。また、対照品種として用いられる既存品種等に関しては昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書（あさくさのり、すさびのり）に品種ごとの特性調査結果が一覧表として取りまとめられている。

しかしながら、昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書に記載されている特性調査方法は操作手順が煩雑であるため、品種登録を行ううえで大きな障害となっていることに加え、各特性の評価方法も数値データに基づいた比較ではなくアンケート結果による 3 段階の既存品種の特性調査結果に基づく比較であったため、品種間の特性比較を客観的に行いにくいという問題点があった。

また、陸上植物の栽培品種では、品種登録出願の手引き（農林水産省食料産業局新事業創出課種苗審査室、平成 23 年 9 月 20 日版）及び登録出願品種審査要領（平成 10 年 12 月 24 日付け農産第 9422 号農産園芸局長通知、改正平成 25 年 6 月 10 日付け食産第 950 号）において、各特性の数値データによる階級区分を行うことで階級値の違いを特性の違いとして示すことにより出願品種の区別性を認めることで品種登録を行っているが、アマノリ類の場合はこれまで数値データに基づいた特性の階級区分がないために出願品種の区別性を明確にするのに苦慮している。

そこで、前述したような新たな特性評価手法を開発し品種試験や品種特性の判別を効率化することを目的として室内培養試験の数値データに基づいた各特性の階級区分及び判断基準を提案することにした。

#### ・葉状体の色調

葉状体の色調の階級区分は、明度、色相、総合評価の 3 つの形質を指標とした。

明度については、オオバグリーンとスサビ緑芽の 2 品種が明度 6 前後となり、色見本票における L 行に該当した。この他の赤褐色を呈する 18 品種については明度 5 前後となり、色見本票における M 行に該当した。

色相については、赤褐色を呈する 18 品種が 2 列目の 10R 付近、オオバグリーンが 3 列目の 5YR 付近、スサビ緑芽が 5 列目の 5Y 付近にそれぞれ該当した。

同一条件で培養しても葉状体に個体差が存在することを考慮すると、これ以上明度と色相を細分化することは不適切と考えられる。そこで、色調に関する階級区分としては、明度を 8 から 4 にかけて 5 段階に区分して J, K, L, M, および N とし、色相を 5R, 10R, 5YR, 10YR, 5Y, 10Y, および 5GY の 7 段階に区分してそれぞれ 1 から 7 までの値を記す階級区分を提案する（表 1）。色相と明度を総合評価すると、赤褐色の 18 品種が M-2、オオバグリーンが L-3、スサビ緑



芽がL-5にそれぞれ該当する。これらの色調はRHSカラーチャート番号ではそれぞれ177C, 177D, および199Cにそれぞれ該当する。

表1 葉状体の色調（明度、色相、総合評価）に関する階級区分

重要な形質	形質	定義		状態または区分		階級	備考
				色票	明度(マンセル表色系)		
葉状体の色	①葉状体の色(明度)	基本的培養条件下においてM-ESAW培地を用いて殻胞子から28日間培養した後、色票で葉色を観察して判定する。	観察 (色票の縦方向)	J	8(7.5 $\leq$ , <8.5)	1	
				K	7(6.5 $\leq$ , <7.5)	2	
				L	6(5.5 $\leq$ , <6.5)	3	オオバグリーン、スサビ緑芽
				M	5(4.5 $\leq$ , <5.5)	4	U-51、有明1号、大牟田1号、アオクビ、佐賀1号、佐賀8号、クロスサビ、青芽、佐賀5号、水呑、しあわせ1号、女川スサビ、フタタスサビノリ、福岡1号、熊本漁連3号、野間、湯の浦、ZX-1
				N	4(3.5 $\leq$ , <4.5)	5	
	②葉状体の色(色相)		観察 (色票の横方向)	1	5R(2.5R $\leq$ , <7.5R)	1	
				2	10R(7.5R $\leq$ , <2.5YR)	2	U-51、有明1号、大牟田1号、アオクビ、佐賀1号、佐賀8号、クロスサビ、青芽、佐賀5号、水呑、しあわせ1号、女川スサビ、フタタスサビノリ、福岡1号、熊本漁連3号、野間、湯の浦、ZX-1
				3	5YR(2.5YR $\leq$ , <7.5YR)	3	オオバグリーン
				4	10YR(7.5YR $\leq$ , <2.5Y)	4	
				5	5Y(2.5Y $\leq$ , <7.5Y)	5	スサビ緑芽
				6	10Y(7.5Y $\leq$ , <2.5GY)	6	
				7	5GY(2.5GY $\leq$ , <7.5GY)	7	
	③葉状体の色(総合評価)		観察 (色票)	色票	RHSカラーチャート		
M-2		177C		1	U-51、有明1号、大牟田1号、アオクビ、佐賀1号、佐賀8号、クロスサビ、青芽、佐賀5号、水呑、しあわせ1号、女川スサビ、フタタスサビノリ、福岡1号、熊本漁連3号、野間、湯の浦、ZX-1		
L-3		177D		2	オオバグリーン		
L-5		199C		3	スサビ緑芽		

### ・生長性

生長性は葉長を指標とし、28日間培養した後の葉長を基準に用いた。

葉長については、女川スサビ、佐賀5号及び佐賀1号が平均20cmを超え、水呑、佐賀8号及び大牟田1号が15cmを超えた。10品種が10～15cmの範囲に含まれ、野間、スサビ緑芽、オオバグリーン及び青芽が10cmを下回った。各品種の平均葉長は3.2～25cmで、約8倍の範囲にわたり分布することから、これらを等間隔で区分した場合、計測値の大きい品種群を不必要に細分化する恐れがある。そこで、生長性に関する階級区分としては葉長の日間伸長率(%)を採用し、葉長については日間伸長率32～46%を約2%刻みとする階級区分を提案する(表2)。今回用いた20品種は6段階に区分された。なお、オオバグリーンについては、今回使用した培養液の関係上適正な値となっていない可能性がある。

表2 生長性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義		状態または区分		階級	備考
				葉長(cm)	日間伸長率(%)		
生長性	葉長	基本的培養条件下においてM-ESAW培地を用いて殻胞子から28日間培養した後、葉長及び葉幅を測定する。	計測	<3	<32	1	
				3 $\leq$ , <4	32 $\leq$ , <34	2	青芽
				4 $\leq$ , <7	34 $\leq$ , <36	3	オオバグリーン、スサビ緑芽
				7 $\leq$ , <10	36 $\leq$ , <38	4	野間
				10 $\leq$ , <15	38 $\leq$ , <40	5	U-51、アオクビ、クロスサビ、有明1号、フタタスサビノリ、しあわせ1号、熊本漁連3号、湯の浦、ZX-1、福岡1号
				15 $\leq$ , <22	40 $\leq$ , <42	6	大牟田1号、佐賀8号、佐賀5号、水呑
				22 $\leq$ , <33	42 $\leq$ , <44	7	佐賀1号、女川スサビ
				33 $\leq$ , <48	44 $\leq$ , <46	8	
				48 $\leq$	46 $\leq$	9	

・栄養繁殖性

栄養繁殖性は、原胞子放出時期、葉状体1枚当たりの有効原胞子数、温度特性の3つの形質を指標とした(表3)。

葉状体1枚当たりの有効原胞子数は、3温度の試験区で得られた最も高い値とした。評価を行った21品種の葉状体1枚あたりの有効原胞子数の最大値は佐賀8号が369.97で、次いでオオバグリーンの171.60だったことから、最も大きい階級区分は「極多数(200≤)」として、葉状体1枚あたりの有効原胞子数が200未満の階級を「なし(0)」、「かなり少数(<1)」、「少数(1≤, <5)」、「やや少数(5≤, <10)」、「中(10≤, <30)」、「やや多数(30≤, <50)」、「多数(50≤, <100)」、「かなり多数(100≤, <200)」の8つの階級に区分した(表3)。

21品種の葉状体1枚当たりの有効原胞子数を9段階評価に階級分けすると、培養温度の変化による階級差がない品種が10品種、階級差が1の品種が7品種、階級差が3以上の品種が3品種あった。そこで、温度別の葉状体1枚あたりの有効原胞子数の階級差が2階級以上を「温度特性あり」、1階級以下を「温度特性なし」とした(表3)。

表3 栄養繁殖性(原胞子放出時期、葉状体1枚当たりの有効原胞子数、温度特性)に関する階級区分

重要な形質	形質	定義		状態または区分	階級	備考	
栄養繁殖性	①原胞子放出時期	殻胞子を基質(ビニロン原系)に採苗し1細胞で冷凍保存する。標準培養液で解冻し解冻日を日齢0日として18、20、22℃の3温度でそれぞれ培養する。日齢7日、14日にそれぞれ培養液を交換し原胞子の付着状況を観察する。また、日齢14日には葉状体を培養基質(ビニロン原系)から剥離後、実顕微鏡下で剥離の障害を受けていない葉状体を選別し新たな基質(ビニロン原系)とともに日齢21日まで培養し、基質に付着した原胞子発芽体数を計数する。日齢7日、14日、21日の原胞子付着の有無を①原胞子放出時期とし、日齢21日の原胞子発芽体数を培養葉状体数で除した値を②原胞子発芽体量とする。②原胞子発芽体量は、3温度帯で得た結果の中で最も高い階級とし、その温度帯での原胞子放出時期を①とする。	観察	葉状体日齢			
				放出せず		1	佐賀5号、水吞、女川スサビ、フタマタスサビノリ、熊本漁連3号、野間、湯の浦
				0~7日		2	
				8~14日		3	オオバグリーンのY-3-2A
	②原胞子発芽体量	なし	0	1	佐賀5号、水吞、女川スサビ、フタマタスサビノリ、熊本漁連3号、野間、湯の浦		
			<1	2	U-51、スサビ緑芽、有明1号、佐賀1号、クロスサビ、青芽、しあわせ1号、福岡1号		
			1≤, <5	3	ZX-1		
			5≤, <10	4	大牟田1号		
			10≤, <30	5	アオクビ		
			30≤, <50	6			
			50≤, <100	7			
			100≤, <200	8	オオバグリーンのY-3-2A		
	200≤	9	佐賀8号				
③温度特性	②原胞子発芽体量の温度別の階級差が2階級以上認められるものを温度特性あり、2階級未満のものを温度特性なしとする。	観察	なし		1	U-51、スサビ緑芽、有明1号、オオバグリーンの佐賀1号、クロスサビ、青芽、佐賀5号、水吞、しあわせ1号、女川スサビ、フタマタスサビノリ、熊本漁連3号、ZX-1、福岡1号、野間、湯の浦、Y-3-2A	
			あり		2	大牟田1号、アオクビ、佐賀8号	
			ありの場合の特徴				大牟田1号:原胞子発芽体量(18℃かなり少数、22℃なし)
							アオクビ:原胞子発芽体量(20、22℃なし)
					佐賀8号:原胞子発芽体量(20℃少数、22℃やや少数)		

・遊離アミノ酸含量

OPA 蛍光法による分析結果では、遊離アミノ酸含量が最も多い熊本漁連3号(5825mg/100g乾燥藻体)を筆頭に、各品種の遊離アミノ酸含量は3000~6000mgの範囲に集中した。

そこで、遊離アミノ酸含量を指標とした特性評価方法としては、100g乾燥藻体あたりの遊離アミノ酸含量により、4000mg以上6000mg未満(熊本漁連3号、ZX-1、女川スサビ、福岡1号、クロスサビ、スサビ緑芽、オオバグリーンの湯の浦)、2000mg以上4000mg未満(佐賀8号、有

明1号, 佐賀5号, フタマタスサビノリ, 佐賀1号, 野間, U-51, しあわせ1号, アオクビ, 水呑, 大牟田1号), 及び2000mg未満(青芽)の3階級による区分を提案する(表4)。

また, ニンヒドリン法による遊離アミノ酸含量の分析値の平均値について, Dunnett の手法によりU-51の分析結果との多重比較を行った結果, 熊本漁連3号, ZX-1, 女川スサビ, 福岡1号, クロスサビ, スサビ緑芽, オオバグリーンの7品種ではU-51より多く, 大牟田1号および青芽の2品種ではU-51より少なく(有意水準1%), 統計処理の結果でもOPA蛍光法による分析結果の階級区分と概ね同様の傾向がみられた。

表4 遊離アミノ酸含量に関する階級区分

重要な形質	形質	定義	測定	状態または区分 (mg/100g乾重量)	階級	備考
遊離アミノ酸含量	呈味成分	基本的培養条件下においてM-ESAW培地を用いて殻胞子から28日間培養した葉状体から遊離アミノ酸を抽出して分析を行い、総遊離アミノ酸含量を用いて階級を決定する。		少ない: <2000	1	青芽
				中間 :2000≤、<4000	2	U-51、佐賀8号、有明1号、佐賀5号、フタマタスサビノリ、佐賀1号、しあわせ1号、水呑、アオクビ、大牟田1号、野間
				多い :4000≤、<6000	3	女川スサビ、クロスサビ、スサビ緑芽、オオバグリーン、熊本漁連3号、ZX-1、福岡1号、湯の浦

### ・低塩分耐性

ノリ葉状体の培養は, 塩分以外は基本的培養条件にしたがい, 地先海水を基本海水とした1/2 SWM-III改変培地, 温度18°C, 光周期11L:13D, 光強度 $60 \mu \text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ とする。塩分については, 予め地先海水を30, 25, 20, 15の4段階に精製水で調整して用いる。室内採苗によって殻胞子をクレモナ単系に付着させ, 6時間程度の前培養を行って胞子の立ち上がりを確認した後各試験区に投入する。培養液を首まで入れた300mlのフラスコ中で14日間通気培養を行い, 途中7日目に培養海水を全交換する。培養系間の誤差を小さくするため, 各試験区につき3セットずつの培養を行う。

培養終了後, 各試験区の各セットにおいてそれぞれ上位30個体の葉長を測定し, 3セット計90個体の平均葉長を求める。塩分30区の平均葉長を100として塩分15区の平均葉長の相対値を求め, 階級区分にしたがって低塩分耐性を評価した。

今回, 評価を行った20品種の平均葉長相対値は24.7~120.0であった。全品種の平均葉長から算出した平均葉長相対値は69.1であったことから, 60~80区を階級4(中)に設定し, 20毎に7階級に区分した(表5)。階級別の品種数分布をみると, 階級4(中)が5品種, 階級3以下(やや弱, 弱, かなり弱)が9品種, 階級5以上(やや強, 強, かなり強)が6品種であった。有明1号を除く19品種は階級2~6の範囲内に収まり, 概ね階級4を中心とした分布になっていることから, 妥当な階級設定であろうと判断される。

表5 低塩分耐性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義	計測 (葉長)	状態または区分	階級	備考	
低塩分耐性	低塩分耐性	基本的培養条件下において, 殻胞子を塩分30及び15で14日間培養する。培地は7日目に全交換する。14日後の平均葉長を測定して, 塩分30と15と比較する。塩分30での生長を100として, 塩分15での生長と相対比較する。		かなり弱	<20	1	
				弱	20≤、<40	2	U-51、大牟田1号、オオバグリーン
				やや弱	40≤、<60	3	クロスサビ、水呑、青芽、野間、福岡1号、ZX-1、
				中	60≤、<80	4	スサビ緑芽、しあわせ1号、佐賀8号、女川スサビ、湯の浦
				やや強	80≤、<100	5	佐賀1号、フタマタスサビノリ、熊本漁連3号
				強	100≤、<120	6	アオクビ、佐賀5号
				かなり強	120≤	7	有明1号

### ・低栄養塩耐性

各品種について基本的培養条件で約 28 日間(十分な葉幅が得られない場合は培養期間を延長する)の予備培養を行い、生長と色調が上位の葉状体を 5 枚選出し、生検トレパン(医療用パンチ)を用いて円形に切り抜き供試葉状体とする。なお、使用する色彩色差計の測定部の直径により供試葉状体の直径は調整する(当該課題では直径 5mm に設定した)。

低栄養塩暴露試験の培養条件は、M-ESAW 改変培地から硝酸ナトリウムを除いた培養液(以下、ESAW-NaNO<sub>3</sub>と略す)を用い、その他の培養条件は基本的培養条件と同一条件とする。

各供試葉状体の試験前の色調を測定した後、ESAW-NaNO<sub>3</sub>の低栄養塩条件で 3 日間(72hr)培養した後、各供試葉状体の色調を測定する。なお、各品種とも延べ 4 回以上の繰り返し試験を行った。

葉状体の色調は、色彩色差計「NF333(日本電色)」を用い、比較の色調が安定している部位を定めて測定する。測定した L\*値、a\*値、b\*値から、規定の計算式[ $100 - \sqrt{(L^* + a^{*2} + b^{*2})}$ ]により黒み度を算出する。なお、色調の評価には、黒み度[ $100 - \sqrt{(L^* + a^{*2} + b^{*2})}$ ]を主な評価指標とした。

葉状体の色調評価に当たっては、標準品種である U-51 の黒み度を 100 とした指数(以下、「相対黒み度」とする)を設定し、低栄養塩暴露試験後の相対黒み度を指標として階級区分を行った(表 6)。

表 6 低栄養塩耐性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義	測定	状態または区分	階級	備考	
栄養要求性	低栄養塩耐性	基本的培養条件下で殻胞子から培養した葉状体から直径 5mm の葉片を切り出し、M-ESAW 人工海水培地から窒素源を除いて 3 日間培養する。その葉片を色彩色差計で測定する。 黒み度 = $100 - \sqrt{(L^* + a^{*2} + b^{*2})}$	測定	相対黒み度			
				(3日培養後の試験品種の黒み度) / (培養前の U-51 の黒み度)			
				極弱い	<45	1	
				弱い	45 ≤、<50	2	スサビ緑芽
				やや弱い	50 ≤、<55	3	アオクビ、オオバグリーン、佐賀 1 号、佐賀 5 号、佐賀 8 号、クロスサビ、青芽、水呑、野間、ZX-1
				中	55 ≤、<60	4	U-51、有明 1 号、大牟田 1 号、しあわせ 1 号、女川スサビ、熊本漁連 3 号、湯の浦、福岡 1 号
強い	60 ≤	5	フタマタスサビノリ				

### ・高温耐性

特性評価手法で設定した 4 水温区のうち品種間の多層化葉状体出現率の平均値に大きな差異が認められた 24℃区を中心に階級区分を検討した。24℃区では階級区分のうち「弱(特性値 70% ≤)」、「中(40 ≤、<70)」、「強(10 ≤、<40)」、「かなり強(<10%)」の 4 区分を設定した(表 7)。階級区分の特性値の範囲は試験時によって最大 30% 程度のバラツキが見られる品種もあることを考慮して設定した。「かなり強」の特性値の範囲が他の区分と異なるが、計測値で 10% 以下の値を示す品種はこれまで皆無であることから、「強」とは区別して設定することが適当と判断した。

22℃区では階級区分のうち「極弱(20% ≤)」を設定した。特性値の範囲は、「湯ノ浦」を除く 20 品種の出現率はすべて 20% 以下に収まることから、20% 以上とすることで偶然性を排除した評価が可能であろうと判断した。

当事業で特性評価を行った 21 品種は 26℃下では 100% の葉状体に多層化が生じた。一方で、南方系のアマノリでは 25℃以上の一定期間の培養においても多層化が生じない種も知られて

おり、今後、これらの種との交雑等によって高温耐性株が開発された場合の階級区分も設定しておく必要がある。そこで、26℃区では階級区分のうち「極強 (<80%)」を設定した。特性値の範囲を設定するにあたっては、26℃では100%以下の値を示す品種がなかったため、22℃区と同様に20%の範囲を持たせて、80%未満とすることで偶然性を排除した評価が可能であろうと判断した。

表7 高温耐性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義		状態または区分	階級	備考	
温度適応性	高温耐性	幼芽(日齢0日)を水温22、24、26℃の3温度区で日齢14日まで培養し、多層化の発生の有無を顕微鏡で観察して多層化葉状体出現率(%)を求める。水温以外の培養条件は、基本的培養条件に従う。	測定(%)	多層化葉状体出現率(%)			
				極弱	22℃:20%<	1	湯の浦
				弱	24℃:70-100%	2	U-51、スサビ緑芽、有明1号、大牟田1号、佐賀8号、青芽、水呑、しあわせ1号、女川スサビ、フタマタスサビノリ、野間、熊本漁連3号、福岡1号、ZX-1
				中	24℃:40-70%	3	オオバグリーン、佐賀5号、クロスサビ、佐賀1号、アオクビ
				強	24℃:10-40%	4	MCF1(千葉県高温選抜株)
				かなり強	24℃:0-10%	5	
				極強	26℃:<80%	6	

### ・壺状菌病耐性

1/2 SWM-III 改変培地 20ml の入った三角フラスコにそれぞれ葉状体 3 枚入れた後、遊走子を終濃度が 100 個/ml となるように添加し、CRADLE-SHAKER で緩やかに攪拌培養した。24 時間培養後に葉状体を取り出し、新しい 1/2 SWM-III 改変培地 20ml で同様に培養した。さらに 18 時間培養後、葉状体 1 枚あたり中央部 5 視野(光学顕微鏡:×200 倍)を観察し、1 視野あたりの感染細胞数を計数した。試験は、品種ごとに 3 回行い、得られた結果の平均値をその品種の感染細胞数とした。壺状菌病耐性の評価は、U-51(対照品種)の感染細胞数を 1 としたときの相対指数(壺状菌病相対感染指数)を用いて行った。最大値が ZX-1 の 2.25、最小値が大牟田 1 号の 0.29 となり、この範囲内で均等に 4 区分の階級に分け、壺状菌病耐性を「極弱」、「弱」、「中」、「強」という表現で示した(表 8)。なお、階級の表現については、U-51 が基準品種であることや ZX-1 のみに他 19 種と有意差が見られた(Tukey HSD 検定,  $p < 0.05$ ) ことなどを考慮した。

表8 壺状菌病耐性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義		状態または区分	階級	備考	
耐病性	壺状菌病抵抗性	1/2 SWM-III 添加海水20mlを満たした50ml容三角フラスコに2~3cmの壺状菌未感染の葉体を3枚および壺状菌遊走子を2000個添加し、60回転/分の攪拌培養を行う。24時間培養後に葉状体を取り出し、新しい培養液20mlで同様に培養する。18時間培養後、葉体1枚あたり中央部5視野(×200倍)を観察して壺状菌感染細胞数を計数し、U-51を対照として相対感染指数を求める。	測定	相対感染指数			
				極弱	$1.8 \leq$	1	ZX-1
				弱	$1.2 \leq, < 1.8$	2	しあわせ1号、水呑、湯の浦、熊本漁連3号
				中	$0.6 \leq, < 1.2$	3	U-51、スサビ緑芽、有明1号、佐賀1号、佐賀8号、クロスサビ、青芽、佐賀5号、野間、福岡1号
				強	$< 0.6$	4	大牟田1号、アオクビ、オオバグリーン、女川スサビ、フタマタスサビノリ

・あかぐされ病耐性

ノリ養殖品種リストにある全 20 品種について、①あかぐされ病相対感染箇所指数②あかぐされ病相対感染速度指数③あかぐされ病相対感染指数の 3 指数を用いてあかぐされ病耐性の品種特性評価を行った。実際の黒ノリ養殖漁場における黒ノリ葉状体へのあかぐされ病の感染や蔓延の大きな要因としては、感染箇所数と感染速度があげられる。この両要因を考慮した結果、最終的な評価手法には、あかぐされ病相対感染指数を用いることが適当であると考えられた。本指数を用いて、ノリ養殖品種リストにある品種毎のあかぐされ病耐性について、階級区分を行った。各品種について、あかぐされ病相対感染指数を算出したところ、本手法を用いた階級区分については、基本品種 U-51 に対して、あかぐされ病耐性が強いと考えられるグループ (<1.0)、中間のグループ (1.0~4.0)、弱いグループ (4.0<)、の 3 階級に分けることが妥当であると考えられた (表 9)。

表 9 あかぐされ病耐性に関する階級区分

重要な形質	形質	定義	測定	状態または区分	階級	備考	
耐病性	あかぐされ病抵抗性	基本的培養条件下において殻胞子から3週間培養した葉状体の中央部から直径1mmに打ち抜いたディスクを用いて、遊走子を30,000個投入(直径6cmのシャーレ)する。攪拌後、静置で15分間感染させ、24時間後に感染力所を計数する。	測定	相対感染指数			
				弱	4.0<	1	佐賀5号、水呑、青芽、スサビ緑芽、しあわせ1号
				中	1.0≦、≦4.0	2	U-51、熊本漁連3号、フタタスサビノリ、有明1号、佐賀8号、アオクビ、クロスサビ、大牟田1号、オオバグリーン、佐賀1号
強	<1.0	3	野間、湯の浦、福岡1号、ZX-1、女川スサビ				

文 献

日本水産資源保護協会 (1980) 昭和 54 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり、すさびのり)。日本水産資源保護協会、東京。173pp.

日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり、すさびのりの栽培試験法)。日本水産資源保護協会、東京。70pp.

農林水産省 (1998) 登録出願品種審査要領。農林水産省、東京。26pp.

農林水産省食料産業局新事業創出課種苗審査室 (2011) 品種登録出願の手引き。農林水産省、東京。63pp.

## 4. 野外養殖試験

### 4-1. 有明海における支柱式養殖場での特性および環境条件

横尾一成・山田秀樹・藤武史行・三根崇幸・久野勝利

ノリの生産は気象・海況に大きく左右されることから、近年の秋芽網期の高水温（川村・久野 2006）や冷凍網期の栄養塩不足（首藤ら 2009）などが安定生産へ向けての重要な課題となっている。そのため、これまでに多くの養殖品種が選抜育種等で分離され、その特性について報告されている（川村・鷺尾 2000, 横尾ら 2003）が、ノリの形質は養殖環境によって大きく変化する場合があります。野外養殖試験などでの評価は容易ではないため、品種間の特性の差異については整理されていない。また、特性の評価については評価方法の統一基準として昭和55年に作成された「昭和55年度種苗特性分類調査報告（あさくさのり、すさびのりの栽培試験）社団法人日本水産資源保護協会」の「Ⅲ野外比較栽培試験実施要領」が利用されているが、特性の計測項目が膨大で多岐にわたるため、種苗法に基づく新品種の登録が進んでいない。そこで、ノリの新品種作出・登録などを促進することを目的として、室内培養試験による新たな品種判別・特性評価手法を開発することが急務となっている。

本章では、前章までの室内培養による評価手法の開発において評価された数品種を使用し、支柱式養殖での野外養殖試験による評価を複数年にわたって実施した。その結果と室内培養試験の結果を比較、検討し、ノリの品種特性を把握するための野外養殖試験について考察した。

#### 方 法

**供試品種と採苗** 野外養殖試験を行うにあたり、比較対照として室内培養試験と共通したU-51を用い、基本的に3種について複数年の試験を実施した。2007年度は対照品種のU-51、佐賀5号、有明1号を用いたが、2008年度から2010年度はU-51、佐賀5号、佐賀8号について試験を実施した（表1）。2007年度から2010年度の5月に、独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所が単藻化した供試品種3種のフリー糸状体を貝殻へ移植し、常法により垂下培養して成熟させた。10月上旬に陸上水槽の水車式で1度にノリ網（1.5×18m）8～10枚について採苗し、約6時間後に水分を切って冷凍袋に入れ、張り込みまで-20℃で保管した。接合胞子の着生密度は、網地2.2mmに20個を目安とした。

表1 年度ごとの供試品種

年 度	供試品種		
2007	U-51	佐賀5号	有明1号
2008	U-51	佐賀5号	佐賀8号
2009	U-51	佐賀5号	佐賀8号
2010	U-51	佐賀5号	佐賀8号

**養殖試験** 養殖試験場所は図1に示す有明海佐賀県海域の六角漁場で実施した。育苗から単張り、摘採等の作業は有明海漁業協同組合芦刈支所の漁業者に委託した。養殖管理は本漁場で行われている一般的な方法に準じ、網水位は各年度に佐賀県有明水産振興センターが発行するノリ養殖情報を参考に行った。

また、現行の品種登録における特性評価法である「昭和55年度種苗特性分類調査報告」の「Ⅲ 野外比較栽培試験実施要領」を参考に「野外養殖試験実施要領」を作成し、要領に従って試験を実施した。

育苗は8~10枚重ねで行い、期間中は原則として毎日2~3時間の干出を与えた。葉長が約3cmに達した時点で各品種2枚ずつを単張りした。残った網は水分を除いて冷凍袋に入れ、-20℃で保管した。

養成期（秋芽網期、冷凍網期）の枠はノリ網2連×5列の10枚張りとし、潮通しを考慮して2列目および4列目を空網とし、3列にノリ網6枚をセットした。平均葉長が10-20cmに達した時点で摘採した。冷凍網への張り替えは各年度の佐賀県の秋芽網撤去日、冷凍網出庫日に合わせて行い、秋芽網期と同様に平均葉長が10-20cmに達した時点で摘採した。

育苗期には基本的に2日おき、養成期は1, 2回目の摘採前に網糸を採取し、諸形質を計測した。測定した形質と測定方法を表2に示した。基本的な形質は第1回の摘採時までとし、そのうちのねん性および耐病性については第2回目の摘採まで調査した。

なお、形質のうち、葉長、葉幅および葉長葉幅比については、Tukeyの多重比較により品種間の平均値の有意差を検定した。

**環境観測** 試験期間中の養殖環境を把握するため、3~4日おきに試験海域表層の水温、塩分、栄養塩類、クロロフィルaおよび透明度を測定し、植物プランクトンの出現状況を観察した。測定項目と分析方法を表3に示した。

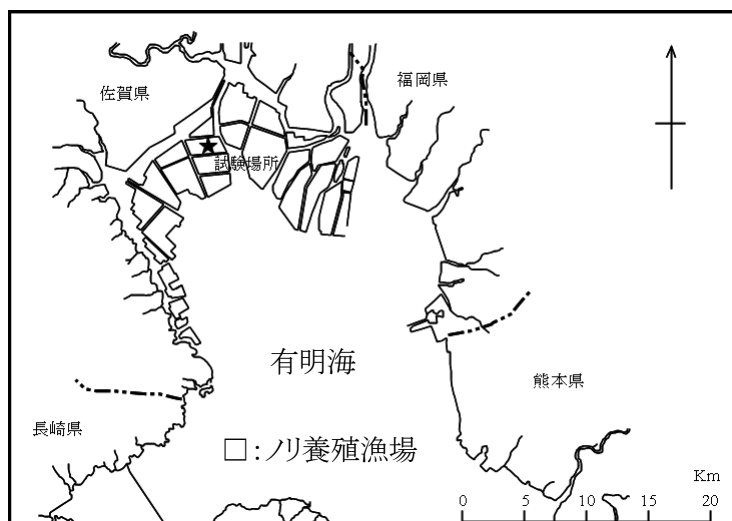


図1 有明海佐賀県海域における養殖試験場所



表 2 評価形質と測定方法

時期	形質	特性計測方法等
幼芽期 (~1cm)	生長性	2~4日おき, 無作為30個体の葉長
		葉幅
	葉形	無作為30個体の“n”縦分裂開始細胞数
	栄養繁殖性	顕微鏡100倍視野(2.2mm)の2次芽付着数
幼葉期 (3cm)	生長性	育苗終了時, 網糸2本に着生した長い30個体の葉長
		葉幅
	葉形	あまのりの外形模式図を標準とした外形
成葉期 (約20cm)	生長性	第1回摘採前, 網糸2本に着生した長い方から30個体の葉長
		葉幅
	葉形	あまのりの外形模式図を標準とした外形
	葉色	第1回摘採前, アマノリ葉状体の色調評価用の色見本票との照合 “ ”, 分光測色計(コニカミノルタCM-3500d)による 無作為10個体のL*a*b*表色系色度
	葉厚	“ ”, 無作為10個体の中央部の厚さ
	ねん性	第1, 2回摘採前, 30個体の生殖細胞形成個体率
	耐病性	“ ” あかぐされ罹病個体率 “ ” 壺状菌罹病個体率
収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	

表 3 測定項目と分析方法

調査項目	分析方法	
海況	水質	棒状水温計
	塩分	DIGITAL SALINOMETER E-202 (鶴見精機社)
水質	NH <sub>4</sub> -N	TRAACS2000 (BRAN LUEBE 社)
	NO <sub>2</sub> -N	“ ”
	NO <sub>3</sub> -N	“ ”
	PO <sub>4</sub> -P	“ ”
	SiO <sub>2</sub> -Si	“ ”
	クロロフィル a	Welschmeyer 法
プランクトン	組成	生物顕微鏡による主要種の計数

## 結果および考察

2007年度から2010年度の育苗期および秋芽網期、冷凍網期の各形質の測定結果を表4に示した。形質によっては品種間に有意差が確認された項目もあったが、年度ごとの環境条件や養殖行程が異なることから、複数年の測定結果の順位と傾向のみについて評価できるU-51、佐賀5号および佐賀8号について述べる。

**育苗期** 葉長は1日あたりの生長で比較すると、U-51が1.15~1.64mm/日、佐賀5号が1.47~2.73mm/日、佐賀8号が1.25~2.08mm/日となり、佐賀5号がすべての年で、佐賀8号が2009年度以外の年でU-51より大きかった。よって3品種間において葉長は佐賀5号および佐賀8号がU-51に対して大きい傾向があると考えられた。葉幅は1日あたりの生長で比較すると、U-51が0.12~0.23mm/日、佐賀5号が0.12~0.26mm/日、佐賀8号が0.14~0.30mm/日となり、佐賀5号が2010年度以外の年でU-51より小さく、佐賀8号がすべての年でU-51より大きかった。よって3品種間において葉幅はU-51に対して佐賀5号が小さく、佐賀8号が大きい傾向があると考えられた。縦分裂開始時期の細胞数は品種間の差異はみられなかった。葉長葉幅比はU-51が7.1~10.6、佐賀5号が8.2~15.4、佐賀8号が6.8~13.0となり、佐賀5号がすべての年でU-51より大きく、佐賀8号は年によって大小が異なっていた。よって葉長葉幅比は佐賀5号がU-51に対して大きい傾向があると考えられた。佐賀8号については佐賀5号より小さい傾向が見られたが、U-51に対して明確な差異はみられなかった。葉形は2007年度のU-51が披針形であるのを除いて、すべて線形となり、3品種間で明確な差異はみられなかった。原胞子発芽体量はU-51が多量~極多、佐賀5号が多量~極多、佐賀8号が少量~極多となり、佐賀5号が2007年度、2010年度で、佐賀8号が2010年度でU-51より少なく、その他の年では同程度であった。従って、各品種における栄養繁殖性の差異は明確ではなかった。

育苗期は生長性、葉形および栄養繁殖性の3つの形質で評価した。その結果、生長性は葉長、葉幅について、葉形は葉長葉幅比で品種間の傾向をみることができ、評価が可能であると考えられた。栄養繁殖性については評価できなかった。

**秋芽網期** 葉長は1日あたりの生長で比較すると、U-51が2.65~3.24mm/日、佐賀5号が2.12~5.14mm/日、佐賀8号が2.22~4.30mm/日となり、佐賀5号、佐賀8号が2009年度以外の年でU-51より大きかった。よって3品種間において、葉長は佐賀5号および佐賀8号がU-51に対して大きい傾向があると考えられた。葉幅は1日あたりの生長で比較すると、U-51が0.26~0.36mm/日、佐賀5号が0.20~0.35mm/日、佐賀8号が0.25~0.40mm/日となり、佐賀5号が2007年度以外の年でU-51より小さく、佐賀8号が2009年度以外の年でU-51より大きかった。よって3品種間において葉幅はU-51に対して佐賀5号が小さく、佐賀8号が大きい傾向があると考えられた。葉長葉幅比は佐賀5号が2008年度、2010年度でU-51より大きく、佐賀8号が2009年度以外の年でU-51より大きかった。よって3品種間において葉長葉幅比は佐賀5号、佐賀8号がU-51に対して大きい傾向があると考えられ、大きい順に佐賀5号、佐賀8号、U-51であった。葉形はすべて線形となり品種間の差異はみられなかった。葉色はU-51が標準色票プレートのN-03、04、佐賀5号がN-04、佐賀8号がL-04、N-04となり、品種間の差異は明確ではなかった。葉厚はU-51が19.0~27.0 $\mu$ m、佐賀5号が19.0~28.5 $\mu$ m、佐賀8号が20.0~28.5 $\mu$ mとなり、年によって品種間の大小が異なっており、傾向は明確ではなかった。生殖細胞形成個体率はU-51が0~50%、佐賀5号が20~40%、佐賀8号が30~80%となり、2010年度は佐賀8号、佐賀5号、U-51の順に成熟が確認されたが、その他の年では品種間の差異はみられず、品種間の傾向は明確ではなかった。耐病性は、あかぐされ病、壺状菌病ともにすべての年度において、未感染か感染程度が低かったため品種間の差がみられず、傾向は明確ではなかつ

た。網あたりの収量は U-51 が 19.1~26.2kg, 佐賀 5 号が 20.1~30.2kg, 佐賀 8 号が 16.2~23.3kg となるが, 収量性は 1 日あたりの収量で比較すると U-51 が 0.54~0.73kg/日, 佐賀 5 号が 0.67~0.97kg/日, 佐賀 8 号が 0.54~0.65kg/日となり, 佐賀 5 号が 2009 年度以外の年で U-51 より多く, 佐賀 8 号が 2008 年度以外の年で U-51 より少なかった。よって 3 品種間において, 収量性は佐賀 5 号が佐賀 8 号, U-51 に対して多い傾向があると考えられた。佐賀 8 号については U-51 に対して明確な差異はみられなかった。

秋芽網期は生長性, 葉形, 葉色, 葉厚, ねん性, 耐病性および収量性の 7 つの形質を 10 種類の計測方法で評価した。その結果, 生長性は葉長, 葉幅によって, 葉形は葉長葉幅比で, 収量性はノリ網 1 枚あたりの湿重量で品種間の傾向をみることができ, 評価が可能であると考えられた。一方, 葉色や耐病性など, その他の形質については評価できなかった。

**冷凍網期** 葉長は 1 日あたりの生長で比較すると U-51 が 2.73~3.71mm/日, 佐賀 5 号が 2.86~4.49mm/日, 佐賀 8 号が 2.37~3.27mm/日となり, 佐賀 5 号が 2010 年度以外の年で U-51 より大きく, 佐賀 8 号が 2008 年度以外の年で U-51 より小さかった。よって 3 品種間において, 葉長は佐賀 5 号が佐賀 8 号, U-51 に対して大きい傾向があると考えられた。佐賀 8 号については U-51 に対して明確な傾向はみられなかった。葉幅は 1 日あたりの生長で比較すると U-51 が 0.21~0.37mm/日, 佐賀 5 号が 0.23~0.38mm/日, 佐賀 8 号が 0.23~0.32mm/日となり, 佐賀 5 号, 佐賀 8 号が 2010 年度以外の年で U-51 より大きかったが, 品種間の差異は明確ではなかった。葉長葉幅比は U-51 が 9.5~13.3, 佐賀 5 号が 8.7~19.4, 佐賀 8 号が 8.3~14.9 となり, 佐賀 5 号, 佐賀 8 号が 2010 年度以外の年で U-51 より大きかった。よって 3 品種間において葉長葉幅比は佐賀 5 号が佐賀 8 号, U-51 に対して大きい傾向があると考えられた。佐賀 8 号については U-51 に対して明確な差異はみられなかった。葉形はすべて線形となり品種間の差異はみられなかった。葉色は U-51 が標準色票プレート の J-05, L-04, N-05, 佐賀 5 号が J-05, L-04, N-04, 佐賀 8 号が J-04, L-04, N-04 となり, 品種間の差異は明確ではなかった。なお, 2009 年度は色落ちが見られた。葉厚は U-51 が 18.5~31.8 $\mu$ m, 佐賀 5 号が 19.5~27.8 $\mu$ m, 佐賀 8 号が 18.5~27.3 $\mu$ m となり, 年によって品種間の大小が異なっており, 品種間の差異は明確ではなかった。生殖細胞形成個体率は U-51 が 0.0~26.7%, 佐賀 5 号が 0.0~30.0%, 佐賀 8 号が 0.0~20.0% となり, 2010 年度は佐賀 5 号, U-51, 佐賀 8 号の順に成熟が確認されたが, その他の年では品種間の差異がみられず, 品種間の傾向は明確ではなかった。耐病性はあかぐされ病, 壺状菌病ともにすべての年度において, 未感染か感染程度が低かったため品種間の差異がみられず, 傾向は明確ではなかった。網あたりの収量は U-51 が 11.9~32.9kg, 佐賀 5 号が 14.5~27.9kg, 佐賀 8 号が 12.8~22.4kg となるが, 収量性は 1 日あたりの収量で比較すると U-51 が 0.34~0.57kg/日, 佐賀 5 号が 0.41~0.64kg/日, 佐賀 8 号が 0.37~0.50kg/日となり, 佐賀 5 号, 佐賀 8 号が 2010 年度以外の年で U-51 より多かった。よって 3 品種間において, 収量性は佐賀 5 号が佐賀 8 号, U-51 に対して多い傾向があると考えられた。佐賀 8 号については U-51 に対して明確な差異はみられなかった。

冷凍網期は秋芽網期と同じく, 生長性, 葉形, 葉色, 葉厚, ねん性, 耐病性および収量性の 7 つの形質を 10 種類の計測方法で評価した。その結果, 生長性は葉長で, 葉形は葉長葉幅比で, 収量性はノリ網 1 枚あたりの湿重量で品種間の傾向をみることができ, 評価が可能であると考えられた。一方, 葉色や耐病性など, その他の形質については評価できなかった。

**環境調査** 各年度の試験期間中の水温は育苗期，秋芽網期が 11.9～23.0℃，冷凍網期が 4.8～14.2℃であった。このうち育苗期，秋芽網期の水温は，2008 年度が他の年より 1～2℃高めであった。冷凍網期の水温は 2007 年度が出庫時は低かったが，生産期が他の年より 1～2℃高めであった（図 2）。各年度の試験期間中の塩分は育苗期，秋芽網期が 27.3～30.8，冷凍網期が 25.7～29.6 であった。このうち育苗期，秋芽網期の塩分は，2007 年度が他の年より 0.5～1 高めであった。冷凍網期の塩分は年度間の大きな違いはなかった（図 3）。各年度の試験期間中の栄養塩類は，育苗期，秋芽網期が 8.0～32.2  $\mu\text{g-at/L}$ ，冷凍網期が 1.0～35.1  $\mu\text{g-at/L}$  であった。このうち育苗期，秋芽網期の栄養塩類は，すべての年度においてノリの生長に影響のない 7  $\mu\text{g-at/L}$  を上回っていた。冷凍網期の栄養塩類は期間の後半で 2007 年を除いて 7  $\mu\text{g-at/L}$  を下回った（図 4）。各年度の試験期間中のクロロフィル a は，2009 年度，2010 年度の冷凍網期後半に増加が見られた（図 5）。各年度の栄養塩の減少がみられた期間に発生した赤潮は，*Asteroplanus karianus*，*Skeletonema costatum* などが主要種で赤潮化した期間は，2008 年度が 1 月 9 日から 4 月 7 日の 1 件，2009 年度が 12 月 25 日から 1 月 7 日，1 月 21 日から 2 月 28 日の 2 件，2010 年度が 1 月 11 日から 2 月 3 日，2 月 25 日から 31 日の 2 件であった。

**まとめ** 以上のように，評価を行った 8 種類の形質のうち，育苗期では生長性と葉形の 2 形質，秋芽網期と冷凍網期では生長性，葉形および収量性の 3 形質について一定の傾向が見られ，評価が可能であった。野外試験で評価できた形質のうち，生長性と葉形については，前章までの室内培養試験の評価とも一致しており，この 2 形質については養殖現場である野外においても室内培養試験と同様に評価ができることが実証された。収量性については，ノリ養殖において非常に重要な評価項目の一つであるが，室内での試験実施が難しいため，本試験で実施したように野外試験での評価が有効であると考えられた。

一方，評価できなかった 5 種類の形質（栄養繁殖性，葉色，葉厚，ねん性，耐病性）について，育苗期の栄養繁殖性は，環境条件だけでなく，養殖管理の違い（干出時間や網洗い等による網汚れの程度）による差も大きいと考えられるため，評価は室内での実施が望ましいと考えられた。葉色や葉厚は，乾海苔の品質，耐病性やねん性は品質と収量に関連する重要な評価項目であり，微妙な違いが後々の生産に大きな影響を及ぼすことも考えられる。本試験では秋芽網期と冷凍網期の前半とも言える 1，2 回摘採までの期間で品種間の差がみられなかったが，評価期間を長くすることで評価が可能かもしれない。しかし，野外試験の労力等を考えると，室内試験で環境条件等を揃えることによって品種間の差異を明確にすれば評価が可能であり，より効率的に実施できると考えられる。なお，冷凍網期については，秋芽網期に比べ，傾向が明確ではない項目が多いことや年度によって品種間の順位が逆転した例があるなど評価のバラツキが多かった。これは冷凍網期が冷凍入庫作業などの人的要因が多いためと考えられた。

以上のようにノリの品種特性を評価する場合，野外養殖試験は様々な環境の変化や人的要因による生長不良などが生じることから，評価できる形質は生長性，葉形および収量性の 3 形質にとどまったが，収量性などを確認するためには必須であると考えられる。野外養殖試験を実施するにあたっては，食害などの不可抗力や環境条件に影響を受けるのはやむを得ないが，採苗，育苗，冷凍入庫管理などの人的影響を排除する方法については，検討の余地があると思われる。今後，より正確な評価を可能にするためには，環境条件の安定した時期や，周囲の養殖網の影響を受けない場所を選択するなどの対策を行う必要がある。

表 4-1 2007 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品 種 名		
				U-51	佐賀5号	有明1号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準偏差 cm)	25	28.7 ± 7.7 <sup>a</sup>	41.7 ± 6.3 <sup>b</sup>	39.5 ± 6.6 <sup>b</sup>
		葉幅(平均値±標準偏差 cm)	25	4.5 ± 1.4 <sup>a</sup>	5.2 ± 0.9 <sup>a</sup>	4.1 ± 0.9 <sup>b</sup>
	葉形	"n"縦分裂開始細胞数	5	11	11	10
		葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	25	6.1 ± 2.6 <sup>a</sup>	8.2 ± 1.7 <sup>a</sup>	10 ± 1.9 <sup>b</sup>
		葉形(代表的な葉形)	25	披針形	線形	線形
	栄養繁殖性	原胞子発芽体量 * 1	25	+++	+++	+++
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準偏差 cm)	31	97.8 ± 24.8 <sup>a</sup>	114.5 ± 26.9 <sup>a</sup>	121 ± 25.7 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準偏差 cm)	31	8.8 ± 3.1 <sup>a</sup>	10.7 ± 2.9 <sup>a</sup>	12.3 ± 2.9 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	31	10.3 ± 3.3 <sup>a</sup>	11.6 ± 3.1 <sup>a</sup>	10.3 ± 2.6 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	31	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	31	N-04	N-04	N-04
	葉厚	中央部の厚さ (平均値±標準偏差 μ m)	31	24.0 ± 2.5	22.8 ± 2.6	24.0 ± 1.8
	ねん性	生殖細胞形成	39	+	+	+
	耐病性	あかぐされ罹病個体 * 2	39	+	+	+
		壺状菌罹病個体 * 2	39	+	+	+
	収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	31	22.3	30.2	27.7
	冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準偏差 cm)	33	122.5 ± 30.4 <sup>a</sup>	148.3 ± 24.7 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準偏差 cm)	33	12 ± 4.3 <sup>a</sup>	12.5 ± 3.4 <sup>a</sup>	12.4 ± 3.6 <sup>a</sup>
葉形		葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	33	9.9 ± 4.8 <sup>a</sup>	12.9 ± 3.2 <sup>a</sup>	13.4 ± 3.1 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	33	線形	線形	線形
葉色		標準色票プレート	33	L-04	N-04	N-04
葉厚		中央部の厚さ(平均値±標準偏差 μ m)	33	25.4 ± 1.3	22.2 ± 1.9	22.2 ± 2.1
ねん性		生殖細胞形成	33	+	+	+
耐病性		あかぐされ罹病個体	37	-	-	-
		壺状菌罹病個体	37	+	+	+
収量性		ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	37	19.6	23.5	15.5

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

\*1 - : なし (未確認), + : 極少 (網糸一節に数個), ++ : 少量 (2.2mm 顕微鏡視野に1~10個),

+++ : 多量 (2.2mm 顕微鏡視野に10~30個), ++++ : 極多 (2.2mm 顕微鏡視野に30個以上)

\*2 感染の有無 + : 感染有り - : 感染無し

表 4-2 2008 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品種名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	26	37.6 ± 1.69 <sup>a</sup>	44.2 ± 1.71 <sup>a</sup>	45.5 ± 1.69 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	26	3.2 ± 0.15 <sup>a</sup>	3.0 ± 0.12 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.17 <sup>a</sup>
	葉形	"n"縦分裂開始細胞数	6	9細胞	9細胞	10細胞
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	26	10.6 ± 0.71 <sup>a</sup>	15.4 ± 0.61 <sup>a</sup>	13.0 ± 0.59 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	26	線形	線形	線形
	栄養繁殖性	原胞子発芽体量 *1	16	+++	+++	+++
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	35	92.8 ± 5.40 <sup>a</sup>	110.6 ± 4.56 <sup>a</sup>	145.0 ± 10.05 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	35	10.5 ± 0.69 <sup>a</sup>	7.7 ± 0.50 <sup>a</sup>	11.0 ± 0.68 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	35	8.2 ± 0.62 <sup>a</sup>	16.2 ± 0.97 <sup>a</sup>	13.9 ± 0.87 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	35	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	35	N-04	N-04	L-04
		色彩差計L*a*b*表色系(L*a*b*)	35	44.64.7:11.9	45.64.1:11.6	46.04.2:11.1
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	35	19.0 ± 0.24	19.0 ± 0.24	20.0 ± 0.32
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	35	30	20	30
	耐病性	あかぐされ罹病個体 *2	35	+	+	+
		壺状菌罹病個体*2	35	-	-	-
	収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	35	19.06	24.34	21.64
冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	34	99 ± 5.01 <sup>a</sup>	136.8 ± 5.94 <sup>a</sup>	111.1 ± 6.57 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	34	7.1 ± 0.51 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.41 <sup>a</sup>	7.9 ± 0.39 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	34	13.3 ± 0.97 <sup>a</sup>	19.4 ± 1.22 <sup>a</sup>	14.9 ± 0.92 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	34	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	34	L-04	L-04	L-04
		色彩差計L*a*b*表色系(L*a*b*)	34	51.7:10.3:31.0	52.19:3.26:7	51.3:10.3:30.3
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	34	25.5 ± 0.20	24.5 ± 0.20	26.5 ± 0.40
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	34	10	10	10
			42	10	10	20
	耐病性	あかぐされ罹病個体	42	-	-	-
		壺状菌罹病個体	42	-	-	+
収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	34	11.91	21.06	16.71	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

\*1 - : なし (未確認), + : 極少 (網糸一節に数個), ++ : 少量 (2.2mm 顕微鏡視野に1~10個),  
+++ : 多量 (2.2mm 顕微鏡視野に10~30個), ++++ : 極多 (2.2mm 顕微鏡視野に30個以上)

\*2 感染の有無 + : 感染有り - : 感染無し

表 4-3 2009 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品種名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	26	38.0±1.53 <sup>a</sup>	38.2±1.13 <sup>a</sup>	32.5±1.34 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	26	4.3±0.18 <sup>a</sup>	3.6±0.14 <sup>a</sup>	5.0±0.21 <sup>a</sup>
	葉形	"n"縦分裂開始細胞数	4	9細胞	9細胞	9細胞
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	26	9.1±0.40 <sup>a</sup>	10.8±0.45 <sup>a</sup>	6.8±0.43 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	26	線形	線形	線形
	栄養繁殖性	原孢子発芽体量 *1	19	+++	+++	+++
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	30	89.3±4.3 <sup>a</sup>	63.6±3.46 <sup>a</sup>	66.6±3.15 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	30	7.9±0.38 <sup>a</sup>	5.9±0.33 <sup>a</sup>	7.5±0.33 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	30	11.6±0.51 <sup>a</sup>	10.9±0.45 <sup>a</sup>	9.1±0.46 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	30	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	30	N-03	N-04	N-04
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*a*b*)	30	43.0:14.9:32.4	43.4:14.1:31.6	41.6:15.6:32.6
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	30	27.0±0.2	28.5±0.24	28.5±0.24
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	30	50	40	40
	耐病性	あかぐされ罹病個体 *2	30	+	+	+
		壺状菌罹病個体 *2	40	-	-	-
収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	30	20.56	20.06	16.21	
冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	35	95.4±3.72 <sup>a</sup>	104.3±3.60 <sup>a</sup>	83.0±3.75 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	35	8.0±0.30 <sup>a</sup>	8.2±0.34 <sup>a</sup>	8.1±0.35 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	35	12.2±0.53 <sup>a</sup>	13.3±0.67 <sup>a</sup>	11.0±0.77 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	35	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	35	J-05	J-05	J-04
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*a*b*)	35	65.0:1.9:16.6	66.0:1.7:16.6	65.8:2.0:17.0
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	35	18.5±0.24	19.5±0.37	18.5±0.24
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	35	0	0	0
			45	0	0	0
	耐病性	あかぐされ罹病個体 *2	45	-	+	+
壺状菌罹病個体 *2		45	-	-	-	
収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	35	12.01	14.51	12.81	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

\*1 -: なし (未確認), +: 極少 (網糸一節に数個), ++: 少量 (2.2mm顕微鏡視野に1~10個),

+++ : 多量 (2.2mm顕微鏡視野に10~30個), ++++ : 極多 (2.2mm顕微鏡視野に30個以上)

\*2 感染の有無 +: 感染有り -: 感染無し

表 4-4 2010 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品種名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	28	46.0 ± 1.1 <sup>a</sup>	76.5 ± 3.1 <sup>a</sup>	58.1 ± 2.7 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	28	6.4 ± 0.1 <sup>a</sup>	7.4 ± 0.3 <sup>a</sup>	8.3 ± 0.3 <sup>a</sup>
	葉形	"n"縦分裂開始細胞数	5	10	10	10
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	28	7.2 ± 0.2 <sup>a</sup>	10.6 ± 0.5 <sup>a</sup>	7.3 ± 0.5 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	28	線形	線形	線形
	栄養繁殖性	原孢子発芽体量 * 1	17	+++	+++	++
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	35	113.5 ± 4.8 <sup>a</sup>	180.0 ± 9.2 <sup>a</sup>	150.4 ± 6.3 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	35	12.7 ± 0.5 <sup>a</sup>	11.9 ± 0.5 <sup>a</sup>	14.0 ± 0.9 <sup>a</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	35	9.1 ± 0.3 <sup>a</sup>	15.7 ± 0.9 <sup>a</sup>	11.7 ± 0.7 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	35	線形	線形	線形
	葉色	標準色票プレート	35	N-04	N-04	N-04
		分光測色計 L*a*b*表色系(L*a*b*)	35	46.8: 6.1: 30.1	49.1: 4.9: 27.4	44.6: 7.4: 33.9
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	35	23.5 ± 0.7	21.3 ± 0.4	24.8 ± 0.6
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	35	3.3	33.3	63.3
			45	0.0	40.0	80.0
	耐病性	あかぐされ病罹病個体率(%)	35	3.3	6.6	3.3
		"	45	40.0	0.0	40.0
		壺状菌病罹病個体率(%)	35	0.0	0.0	0.0
		"	45	0.0	0.0	0.0
	収量性	ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	36	26.2	29.1	23.3
	冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	41	136.6 ± 6.5 <sup>a</sup>	117.2 ± 6.3 <sup>a</sup>
葉幅(平均値±標準誤差 mm)			41	15.3 ± 0.7 <sup>a</sup>	14.6 ± 0.8 <sup>a</sup>	13.3 ± 0.6 <sup>a</sup>
葉形		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	41	9.5 ± 0.6 <sup>a</sup>	8.7 ± 0.6 <sup>a</sup>	8.3 ± 0.4 <sup>a</sup>
		葉形(代表的な葉形)	41	線形	線形	線形
葉色		標準色票プレート	41	N-05	N-04	N-04
		分光測色計 L*a*b*表色系(L*a*b*)	41	55.1: 1.8: 19.6	53.1: 3.4: 27.0	52.6: 3.7: 24.1
葉厚		中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	41	26 ± 0.4	25.8 ± 0.5	27.3 ± 0.4
ねん性		生殖細胞形成個体率(%)	41	26.7	30.0	20.0
			49	6.7	13.3	6.7
耐病性		あかぐされ病罹病個体率(%)	41	0.0	0.0	0.0
		"	49	0.0	0.0	0.0
		壺状菌病罹病個体率(%)	41	0.0	0.0	0.0
		"	49	0.0	0.0	0.0
収量性		ノリ網1枚当たりの湿重量(kg)	45	32.9	27.9	22.4

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

\* 1 - : なし (未確認), + : 極少 (網糸一節に数個), ++ : 少量 (2.2mm 顕微鏡視野に 1~10 個),

+++ : 多量 (2.2mm 顕微鏡視野に 10~30 個), ++++ : 極多 (2.2mm 顕微鏡視野に 30 個以上)



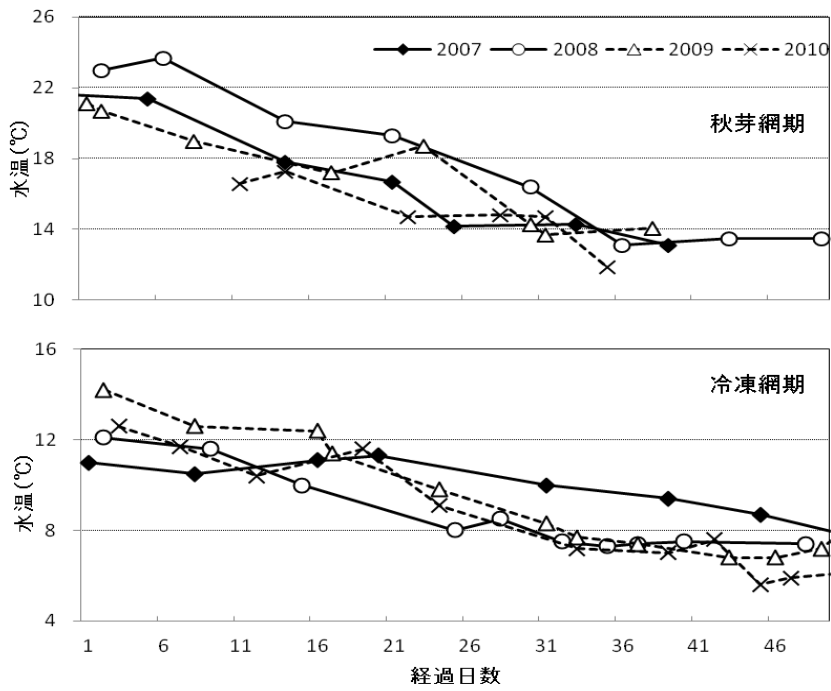


図2 水温の変動

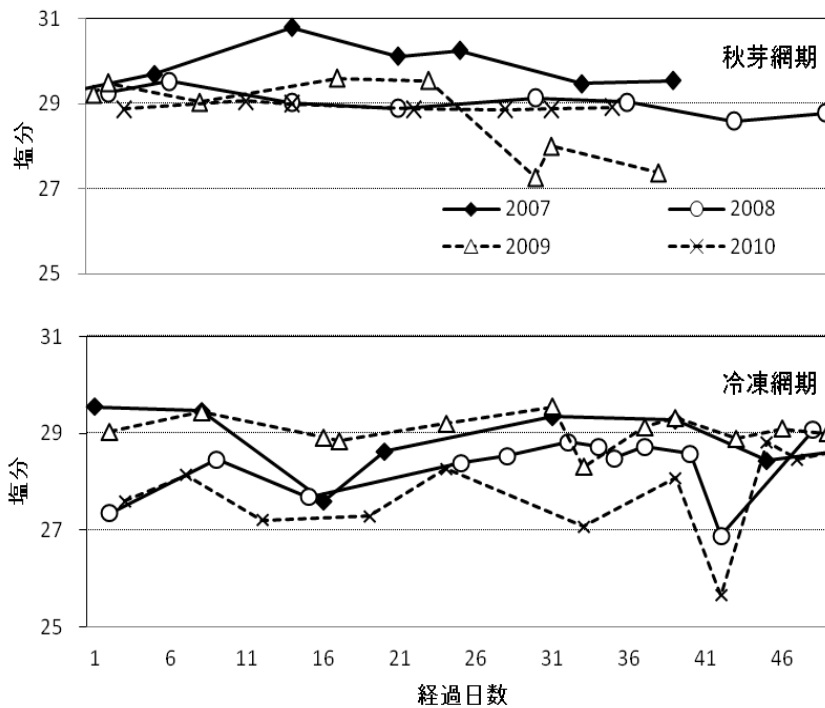


図3 塩分の変動

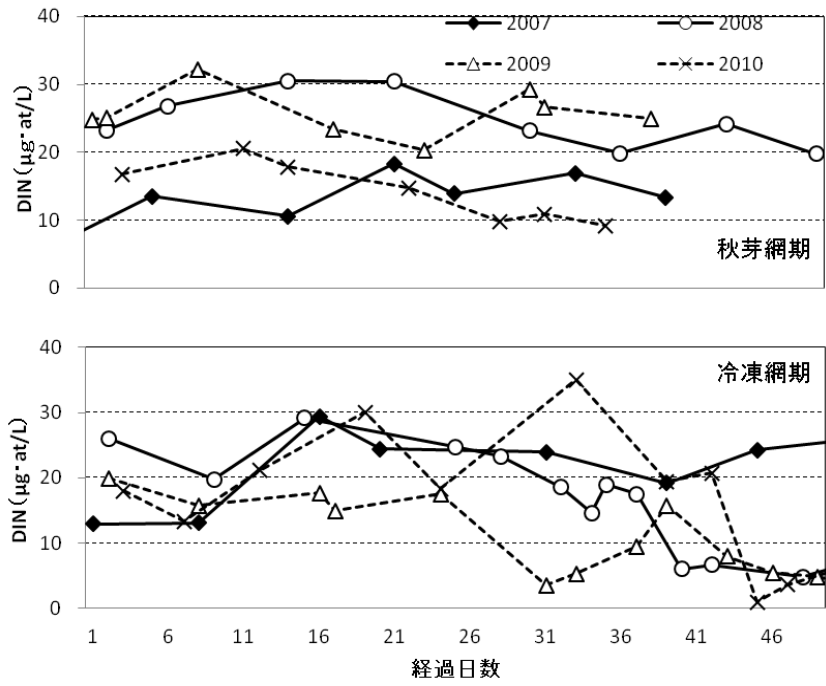


図4 DINの変動

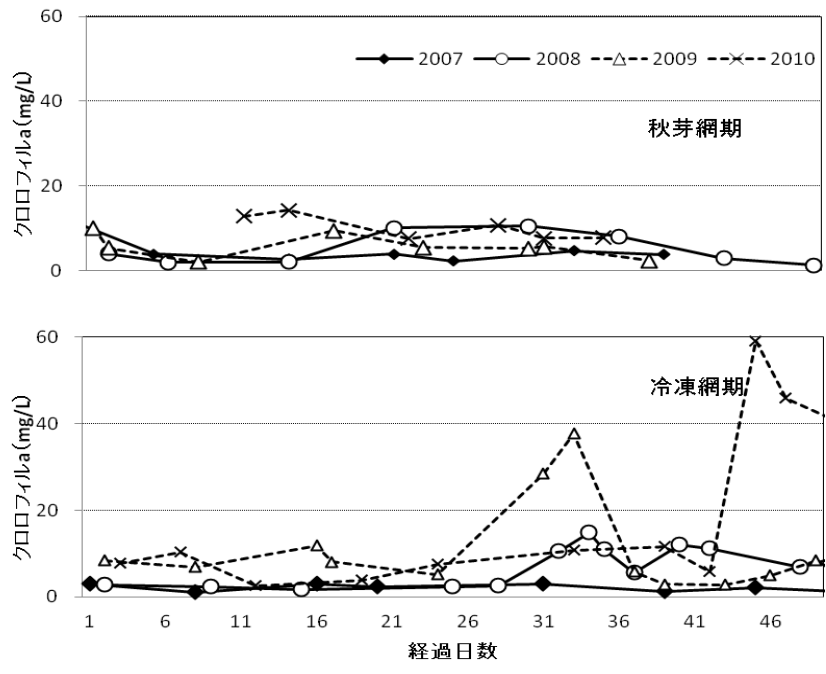


図5 クロロフィルaの変動

## 文 献

- 川村嘉応・久野勝利 (2006) 高水温年における採苗日決定に関する一考察—平成 17 年度を事例として—. 海苔と海藻, 71, 1-8.
- 首藤俊雄・松原賢・久野勝利 (2009) 有明海の栄養塩環境とノリ養殖. 海洋と生物, 181, 168-170.
- 川村嘉応・鷺尾真佐人 (2000) 養殖現場における選抜育種. 海苔の生物学, 成山堂, 東京, pp. 105-113.
- 横尾一成・三根崇幸・荒巻裕・川村嘉応 (2003) ノリ保存株から分離したクローン株の素材評価. 佐有水研報, 21, 105-110.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本資源保護協会, 東京. 70pp.

## 4-2. 瀬戸内海における浮き流し式養殖場での特性および環境条件

清水泰子・草加耕司・林 浩志

近年の養殖環境の特徴である栄養塩の急減（松岡ら 2005）や高水温（杉野ら 2007）、また増加傾向にある輸入品や国内消費者ののり離れなどに対応するため、品種開発による環境対応や差別化が急務であるが、育種は行われているものの（川村 2000）、品種の登録数は伸びていない。この要因として、品種登録における特性の評価方法、特に野外試験に膨大な手間がかかることと、結果が諸条件によって大きく左右されることがあげられる。

昭和 55 年に作成されたノリ品種登録のための評価法である「昭和 55 年度種苗特性分類調査報告（あさくさのり，すさびのりの栽培試験法）社団法人日本水産資源保護協会」の「Ⅲ 野外比較栽培試験実施要領」の試験項目は、詳細に設定されており実施にかなりの労力を要する。また、養殖漁場において現れるノリ品種の特性は、養殖方法や環境の影響を受けて著しく変化するため、その評価が容易でない。野外試験では試験実施場所の気象、水温、塩分、栄養塩濃度などの条件について人為的制御が不可能であり、現れた特徴が品種本来のものであるか、あるいは環境条件に左右されたものか判断が困難であることから、評価指標および結果が再現性に乏しい場合がある。

ノリの諸条件に対する適応性の広さゆえに、従来の品種特性評価法では階級区分指標が客観性に欠ける部分があったが、前章までの室内培養による評価手法開発において、各特性に対しての新たな評価方法と明確な指標が示された。本章では、室内試験における品種特性評価に用いられた数品種を使用し、瀬戸内海の浮き流し式養殖において特性評価試験を複数年にわたって実施し、野外で品種特性評価試験を実施することの意義について考察した。

### 方 法

**供試品種と採苗** 野外養殖試験を行うにあたり、比較対照には室内培養試験と共通して比較的野生型に近い U-51 を用い、基本的に 3 品種について複数年の試験を実施することとした。2007 年度は標準品種の U-51，佐賀 5 号，有明 1 号を用いたが，続く 3 年は U-51，佐賀 5 号，佐賀 8 号について試験を実施し，複数年の比較を試みた。供試品種と採苗等については，4-1 に準じた。表 1 に年度ごとの供試品種を示した。

表 1 年度ごとの供試品種

年度	供試品種		
2007	U-51	佐賀5号	有明1号
2008	U-51	佐賀5号	佐賀8号
2009	U-51	佐賀5号	佐賀8号
2010	U-51	佐賀5号	佐賀8号

**養殖試験** 養殖試験場所は図1に示す岡山市犬島北の水深約10mの通称「白石漁場」で実施した。育苗から単張り、摘採等の作業は朝日漁業協同組合の漁業者に委託し、本漁場の養殖管理と同様に行った。また、現行の品種登録における特性評価法である「昭和55年度種苗特性分類調査報告の「Ⅲ 野外比較栽培試験実施要領」を参考に「野外養殖試験実施要領」を作成し、要領に従って試験を実施した。

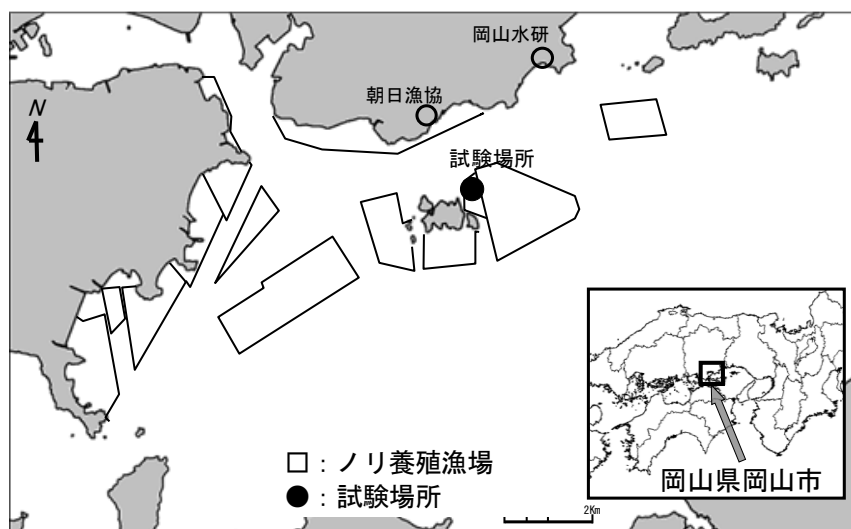


図1 養殖試験場所の位置図

試験方法は、1. 育苗期に原則として毎日1~4時間の人工干出を与えた、2. 平均葉長が20cmに達した時点で摘採船による摘採と酸処理を行った、3. 2回目の摘採後に冷凍網を出庫し、張り替えを行った、4. 冷凍網期には秋芽網期と同様に平均葉長が20cmに達した時点で摘採と酸処理を実施した点を除いて4-1に準じた。

なお、測定項目(表2)のうち、葉長、葉長葉幅比、葉厚、縦分裂開始細胞数“n”については、Tukeyの多重比較により品種間の平均値の有意差を検定した。

表2 測定形質と測定方法

時期	形質	特性計測方法等
幼芽期 (~1cm)	生長性	2~4日おき、無作為30個体の葉長
	葉形	無作為30個体の“n”縦分裂開始細胞数
	栄養繁殖性	単孢子放出終了期、網糸3本における単孢子発芽体量(二次芽数/親芽数)
幼葉期 (3cm)	生長性	育苗終了時、網糸2本に着生した長い30個体の葉長
	葉形	葉長葉幅比
		あまのりの外形模式図を標準とした外形
成葉期 (約20cm)	生長性	第1回摘採前、網糸2本に着生した長い側から30個体の葉長
	葉形	葉長葉幅比
		あまのりの外形模式図を標準とした外形
	葉色	第1回摘採前、アマノリ葉状態の色調評価用の色見本票との照合
		色彩色差計(ミノルタ CR-200)による無作為10個体のL*a*b*表色系色度
	葉厚	無作為10個体の中央部の厚さ
	ねん性	第1,2回摘採前、30個体の生殖細胞形成個体率
耐病性	あかぐされ罹病個体率	
収量性	網糸12本に着生する葉体摘み取り30分後の湿重量	

**環境観測** 試験期間中の養殖環境を把握するため、3～4日おきに試験海域表層の水温、塩分、栄養塩類、クロロフィルaおよび透明度を測定し、植物プランクトンの出現状況を観察した。測定項目と分析方法を表3に示した。

表3 測定項目と分析方法

調査項目		分析方法
海況	水温	棒状水温計
	塩分	DIG-AUTO MODEL3-G(鶴見精機社)
	透明度	直径30cm白色透明度板
水質	NH <sub>4</sub> -N	TRAACS800 (BRAN LUEBE社)
	NO <sub>2</sub> -N	〃
	NO <sub>3</sub> -N	〃
	PO <sub>4</sub> -P	〃
	SiO <sub>2</sub> -Si	〃
	クロロフィルa	Lorenzenの方法
プランクトン	組成	生物顕微鏡による主要種の計数

### 結果および考察

2007年から2010年度の育苗期および秋芽網期、冷凍網期の各形質の測定結果を表4に示した。形質によっては品種間に有意差が確認された項目もあったが、年度ごとの環境条件が異なることと、品種登録においては形質特性の評価に有意差が必須ではないことから、複数年の測定結果の順位と傾向のみについて評価できるU-51、佐賀5号、佐賀8号について述べる。

**育苗期** 葉長は、佐賀8号が29.8～50.1mm、U-51が31.4～47.8mm、佐賀5号が23.1～51.2mmで、同一年度内の品種間には有意差があり、佐賀8号がU-51と佐賀5号よりも大きい傾向にあった。佐賀8号の葉長の標準誤差は他の2種よりも年度間の変動幅が大きく、佐賀8号は他の2種よりも環境等の影響を受けやすいものと考えられた。葉幅は品種間で有意に差がある年度とそうでない年度があったが、佐賀5号が他2品種よりも小さかった。栄養繁殖性は、試験期間中に計測された原胞子発芽体数/親芽数が0.002～0.52と非常に小さく、養殖に用いるには支障が生じる値となり、室内培養試験の評価と異なる結果となった。また、管理手法によって生じたと考えられる芽の脱落等の影響もあった。このことから、評価形質のうち、野外で評価可能な項目を選択すること、養殖を行う海域で育成試験を実施して特性の発現を確認することが必要であると考えられた。縦分裂開始時期の細胞数に品種間の傾向は見られなかった。

表 4-1 2007 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品種名		
				U-51	佐賀5号	有明1号
育苗期	生長性	葉長(平均値±標準偏差 mm)	29	47.8 ± 8.3 <sup>b</sup>	51.2 ± 8.9 <sup>b</sup>	58.3 ± 8.8 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準偏差 mm)	29	3.17 ± 0.62	3.03 ± 0.63	3.02 ± 0.67
	葉形	“n”縦分裂開始細胞数	8	26.0 ± 5.5 <sup>b</sup>	35.3 ± 5.8 <sup>a</sup>	29.3 ± 6.2 <sup>b</sup>
		葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	29	15.4 ± 3.1 <sup>b</sup>	17.4 ± 4.0 <sup>ab</sup>	20.1 ± 4.7 <sup>a</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	29	53:47	97:3	100:0
		原胞子発芽体量(二次芽/親芽)	22	0.25	0.52	0.38
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準偏差 mm)	39	250 ± 52	276 ± 74	240 ± 71
		葉幅(平均値±標準偏差 mm)	39	17.6 ± 4.6	13.8 ± 4.0	12.7 ± 3.3
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	39	14.9 ± 4.1 <sup>b</sup>	20.9 ± 5.7 <sup>a</sup>	20.2 ± 6.9 <sup>a</sup>
		外形	39	37:47:16	40:60:0	43:57:0
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	39	C-07	C-08	C-09
		“ ”	46	C-08	C-07	C-09
		色彩色差計L a b 表色系(L* :a* :b* )	39	59:8.6:18	58:8.8:18	58:9.1:18
	葉厚	中央部の厚さ	39	26.6 ± 1.0	24.9 ± 1.4	25.2 ± 1.7
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	39	0	0	0
		“ ”	46	0	0	0
	耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	39	0	0	0
		“ ”	46	0	0	0
	収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	39	29	26	36
	冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準偏差 mm)	48	238 ± 60 <sup>b</sup>	288 ± 61 <sup>a</sup>
葉幅(平均値±標準偏差 mm)			48	21.7 ± 4.7	16.5 ± 5.0	15.7 ± 3.9
葉形		葉長葉幅比(平均値±標準偏差)	48	11.4 ± 3.4 <sup>b</sup>	18.6 ± 5.3 <sup>a</sup>	19.7 ± 6.8 <sup>a</sup>
		外形	48	43:17:23:17	70:30:0:0	77:23:0:0
葉色		アマノリ色調評価用の色見本票	48	C-10	C-09	C-11
		“ ”	63	C-11	C-12	C-12
		色彩色差計L a b 表色系(L* :a* :b* )	48	76:1.9:19	71:2.6:20	73:1.7:19
葉厚		中央部の厚さ	48	31.2 ± 0.5 <sup>a</sup>	28.8 ± 0.9 <sup>b</sup>	29.4 ± 1.8 <sup>b</sup>
ねん性		生殖細胞形成個体率(%)	48	0	0	0
		“ ”	55	0	0	0
		“ ”	63	100	7	20
耐病性		あかぐされ罹病個体率(%)	48	0	0	0
		“ ”	55	55	95	95
		“ ”	63	47	13	77
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	48	54	47	64	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

表 4-2 2008 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢 \	品 種 名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	30	38.2 ±0.86 <sup>b</sup>	23.1 ±0.86 <sup>c</sup>	50.1 ±1.73 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	30	2.43 ±0.075 <sup>b</sup>	1.74 ±0.090 <sup>c</sup>	2.99 ±0.112 <sup>a</sup>
	葉形	“n”縦分裂開始細胞数	8	24.0 ±1.14 <sup>ab</sup>	21.9 ±1.17 <sup>b</sup>	27.8 ±1.08 <sup>a</sup>
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	30	16.1 ±0.57	14.2 ±0.85	17.0 ±0.51
		外形(線形:線状倒披針形)	30	80:20	90:10	83:17
	栄養繁殖性	原胞子発芽体量(二次芽/親芽)	21	0.05	0.13	0.06
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	42	236 ±10.8 <sup>b</sup>	276 ±15.6 <sup>ab</sup>	309 ±13.1 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	42	17.5 ±1.19	14.3 ±0.72	17.5 ±0.88
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	42	14.6 ±0.79 <sup>b</sup>	21.0 ±1.64 <sup>a</sup>	18.7 ±1.00 <sup>ab</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	42	60:40	93:7	67:33
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	42	C-07	C-08	C-07
		“ ”	50	C-09	C-10	C-08
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	42	54:7.7:16	56:6.7:17	56:7.6:15
		“ ”	50	58:4.3:14	56:3.6:15	55:5.0:14
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	42	28.0 ±0.22	27.5 ±0.62	26.6 ±0.38
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	42	0	0	0
		“ ”	50	0	0	0
	耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	42	0	0	0
		“ ”	50	0	0	0
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	42	61	43	53	
冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	49	298 ±10.9 <sup>a</sup>	312 ±17.8 <sup>a</sup>	109 ±6.0 <sup>b</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	49	27.0 ±1.78 <sup>a</sup>	22.6 ±0.95 <sup>a</sup>	16.3 ±0.79 <sup>b</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	49	12.0 ±0.69 <sup>a</sup>	14.3 ±0.93 <sup>a</sup>	6.9 ±0.35 <sup>b</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	49	50:50	73:27	-
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	49	C-09	C-11	D-09
		“ ”	68	C-09	C-11	D-10
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	49	64:3.4:18	66:1.8:20	64:5.0:21
		“ ”	68	63:3.3:18	60:2.0:17	67:2.4:18
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	49	30.3 ±0.52	30.0 ±0.47	31.9 ±0.59
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	49	0	0	0
		“ ”	68	100	53	100
	耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	49	0	0	0
		“ ”	68	33	53	0
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	49	92	81	16	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。



表 4-3 2009 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品 種 名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	26	31.4 ± 1.22 <sup>a</sup>	24.6 ± 0.89 <sup>b</sup>	29.8 ± 1.00 <sup>a</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	26	2.68 ± 0.081 <sup>a</sup>	2.38 ± 0.053 <sup>b</sup>	2.17 ± 0.070 <sup>b</sup>
	葉形	“n”縦分裂開始細胞数	8	23.8 ± 0.73 <sup>b</sup>	30.2 ± 1.61 <sup>a</sup>	33.3 ± 1.38 <sup>a</sup>
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	26	11.9 ± 0.47 <sup>b</sup>	10.4 ± 0.33 <sup>b</sup>	14.0 ± 0.52 <sup>a</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	26	87:13	77:23	83:17
	栄養繁殖性	原胞子発芽体量(二次芽/親芽)	21	0.042	0.053	0.002
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	38	206 ± 10.2 <sup>a</sup>	196 ± 12.0 <sup>ab</sup>	158 ± 6.6 <sup>b</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	38	17.1 ± 0.74 <sup>b</sup>	22.2 ± 1.13 <sup>a</sup>	15.9 ± 0.89 <sup>b</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	38	12.5 ± 0.67 <sup>a</sup>	9.1 ± 0.48 <sup>b</sup>	10.4 ± 0.46 <sup>ab</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	38	27:73	23:77	17:83
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	38	C-07	C-06	C-07
		“ ”	50	C-07	C-05	C-05
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	38	52:9.8:14	52:11.7:16	50:12.0:15
		“ ”	50	51:7.3:16	51:8.7:15	52:8.9:16
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	38	27.8 ± 0.78	27.6 ± 0.49	27.5 ± 0.50
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	38	0	0	0
		“ ”	50	27	43	40
耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	38	0	0	0	
	“ ”	50	0	0	0	
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	38	69	51	69	
冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	42	331 ± 12.0 <sup>a</sup>	269 ± 14.7 <sup>b</sup>	272 ± 9.2 <sup>b</sup>
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	42	17.7 ± 0.77 <sup>b</sup>	27.5 ± 2.06 <sup>a</sup>	13.5 ± 0.49 <sup>b</sup>
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	42	19.9 ± 1.17 <sup>a</sup>	10.9 ± 0.74 <sup>b</sup>	20.7 ± 0.79 <sup>a</sup>
		外形(線形:線状倒披針形)	42	77:23	70:30	77:23
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	42	C-07	C-06	C-07
		“ ”	53	C-09	C-09	C-10
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	42	55:6.0:14.2	55:7.3:15	54:6.9:16
		“ ”	53	58:4.4:17	56:4.6:18	61:5.1:18
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	42	29.3 ± 0.45	28.9 ± 0.34	29.0 ± 0.28
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	42	0	0	0
		“ ”	53	17	37	7
耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	42	0	0	0	
	“ ”	53	23	17	27	
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	42	126	74	116	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

表 4-4 2010 年度試験結果

時期	形質	特性計測方法等	日齢	品種名		
				U-51	佐賀5号	佐賀8号
育苗期 (幼芽・幼葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	25	31.6 ±0.87 b	32.4 ±0.75 b	49.3 ±1.12 a
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	25	2.11 ±0.063 b	1.36 ±0.044 c	2.76 ±0.073 a
	葉形	“n”縦分裂開始細胞数	8	27.0 ±0.88	26.1 ±0.91	25.2 ±1.38
		葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	25	15.3 ±0.49 c	24.4 ±0.82 a	18.2 ±0.57 b
		外形(線形:線状倒披針形)	25	90:10	87:13	93:7
	栄養繁殖性	原孢子発芽体量(二次芽/親芽)	18	0.061	0.042	0.023
秋芽網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	36	172 ±2.94 c	294 ±8.40 a	214 ±5.33 b
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	36	12.5 ±0.44 b	15.1 ±0.55 a	15.2 ±0.51 a
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	36	14.1 ±0.46 b	20.0 ±0.69 a	14.5 ±0.49 b
		外形(線形:線状倒披針形)	36	33:67	63:27	33:67
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	36	E-06	E-07	E-08
		“ ”	43	E-08	E-09	E-09
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	36	58:12.7:16	62:11.1:16	57:12.2:16
	“ ”	43	51:7.3:16	51:8.7:15	52:8.9:16	
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	36	25.3 ±0.50	23.5 ±0.25	24.0 ±0.56
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	36	90	83	93
		“ ”	43	70	80	77
	耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	36	0	0	0
		“ ”	43	0	0	0
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	36	79	82	75	
冷凍網期 (成葉)	生長性	葉長(平均値±標準誤差 mm)	53	182 ±8.5		190 ±6.9
		葉幅(平均値±標準誤差 mm)	53	22.7 ±1.73		21.0 ±0.97
	葉形	葉長葉幅比(平均値±標準誤差)	53	9.7 ±1.01		9.7 ±0.57
		外形(線形:線状倒披針形:倒披針形:広線形)	53	37:40:20:3		40:57:0:3
	葉色	アマノリ色調評価用の色見本票	53	C-11		C-10
		“ ”	62	A-12		A-12
		色彩色差計L*a*b*表色系(L*:a*:b*)	53	71:3.0:20		64:6.1:23
	“ ”	62	84:-0.8:15		86:-1.0:14	
	葉厚	中央部の厚さ(平均値±標準誤差 μ m)	53	21.4 ±0.43		21.0 ±0.47
	ねん性	生殖細胞形成個体率(%)	53	77		97
		“ ”	62	77		80
	耐病性	あかぐされ罹病個体率(%)	53	0		0
		“ ”	62	0		0
収量性	ノリ網当たりの湿重量(kg)	53	70		51	

数値右のアルファベットは同一文字間で有意差がないことを示す。

**秋芽網期** 秋芽網期の葉長は、佐賀5号が196～294mm、佐賀8号が158～309mm、U-51が172～250mmで、年度により有意差の有無が異なるが、佐賀5号、佐賀8号、U-51の順に大きく、葉長葉幅比も同様であった。育苗期の傾向とは異なる順位となったが、室内培養試験における順位とは同様の傾向を示しており、室内培養における品種特性評価の結果を野外へ応用できる例と言える。また、U-51の葉長の測定値は年度間の差が比較的小さいのに対し、他2品種は変動が大きく、U-51よりも環境等の影響を受けやすいものと考えられた(図2)。葉厚はU-51が25.3～28.0 $\mu\text{m}$ 、佐賀5号が23.5～27.6 $\mu\text{m}$ 、佐賀8号が24.0～27.5 $\mu\text{m}$ で、この順に大きかった。葉形は試験期間を通じて線形または線状倒披針形で、葉色にも品種間の差は無かった。ねん性は2007, 2008年度は成熟個体の割合が0%であったが、2009年度は50日齢で27～43%、2010年度は36日齢で83～93%と3品種とも高かった。あかぐされ病はほとんど発生しなかったため、品種間の耐病性の差は確認できなかった。収量性はU-51が29～79kg、佐賀5号が26～82kg、佐賀8号が36～75kgで、同一品種間でも倍近くの年変動があったが、複数年の傾向としてはU-51が他2品種よりも大きかった。葉長と収量性の品種間の順位が異なったことから、生長性と収量の傾向が必ずしも同様ではないことが示された。生長性に優れた品種であっても、条件によっては収量に反映されない場合があるため、養殖に用いる品種を選択する際には、考慮する必要があることが示された。葉色については、一部で品種間に有意差があったものの、製品にした際に影響が出る範囲ではなく、特性とは言えなかった。

**冷凍網期** 冷凍網期の葉長は、U-51が182～331mm、佐賀5号が269～312mm、佐賀8号が109～272mmであった。U-51、佐賀8号が伸びなかったのはともに2010年度で、佐賀5号については芽の脱落と生長不良のため試験を中止した。2008年度の佐賀8号は食害の影響が大きかった。冷凍網期は生長不良や食害の影響が大きく、葉長についての品種間の傾向は不明瞭であった(図3)。葉長葉幅比は佐賀5号、U-51、佐賀8号の順に大きく、秋芽網期と異なる順位となった。葉厚はU-51が21.4～31.2 $\mu\text{m}$ で佐賀5号と佐賀8号よりも大きく、秋芽網期と同様であった。成熟個体の割合は、U-51が17～100%、佐賀5号が7～53%、佐賀8号が7～100%で、2009年度に7～37%と低かった。試験期間を通じたあかぐされ病の感染個体率は13～100%で、耐病性の品種間の差は不明瞭であった。収量性はU-51が54～126kg、佐賀5号が47～81kg、佐賀8号が16～116kgで、秋芽網期と同様に同一品種間の年変動が倍以上あったが、U-51が他の2品種よりも大きく、秋芽網期と同様の結果となった。

冷凍網期は、養殖工程上、収量を得るために重要な時期であり、品種を選択する際に現場で試験を行って特性を確認する必要がある。しかし、諸条件による変動が秋芽網期よりも大きく、

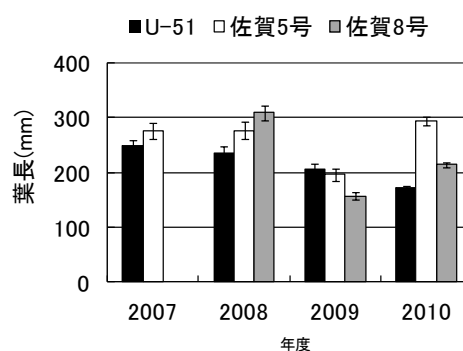


図2 秋芽網期の葉長

バーは標準誤差

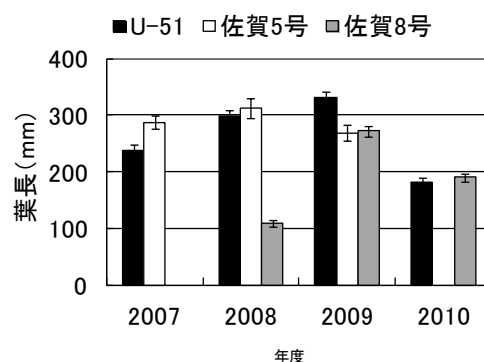


図3 冷凍網期の葉長

バーは標準誤差

品種特性を評価するには適していないと考えられた。葉色については、2009年度に色落ち状態となったが、栄養塩の減少による退色の度合いが品種間の差を大きく上回っており、品種の特性は観察できなかった。

**環境条件** 年度ごとの水温、塩分、溶存態無機窒素（DIN）濃度、クロロフィル a の推移を図 4～7 に示した。水温は 4 年間を通して平年並みか約 1℃ 高く推移したが、2010 年度のみ 11 月中旬以降例年並みもしくは低めに推移し、他年度よりも各工程の開始時期が前倒しとなった。塩分は試験期間を通しておおむね 31～32 で、高めに推移した。佐賀系統の品種が塩分 28 程度（川口ら 2004）の有明海で選抜されたことを考えると、備讃瀬戸海域の高塩分は品種の生育に適さなかった可能性も考えられた。DIN はいずれの年も 12 月中旬以降に大型珪藻の増殖により低下し、2010 年度には色落ち状態を引き起こした。クロロフィル a は試験期間を通して平年よりも低めに推移した。DIN の急減を引き起こした植物プランクトンは、*Rhizosolenia* 属、*Coscinodiscus* 属、*Eucampia* 属等であった。

試験期間を通して、特異的な環境条件は生じなかった。また、品種の特性に与えた影響も明確ではなかった。

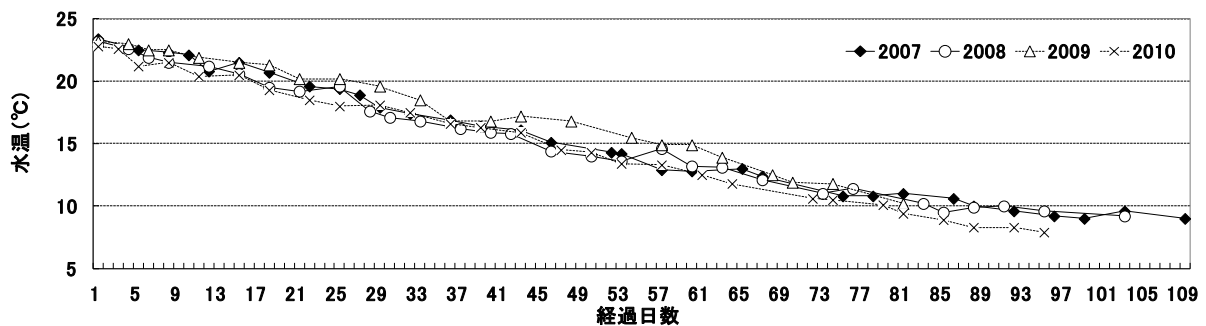


図 4 水温の推移

冷凍網の開始日は 2007 年度は 59 日目、2008 年度は 57 日目、2009 年度は 54 日目、2010 年度は 53 日目

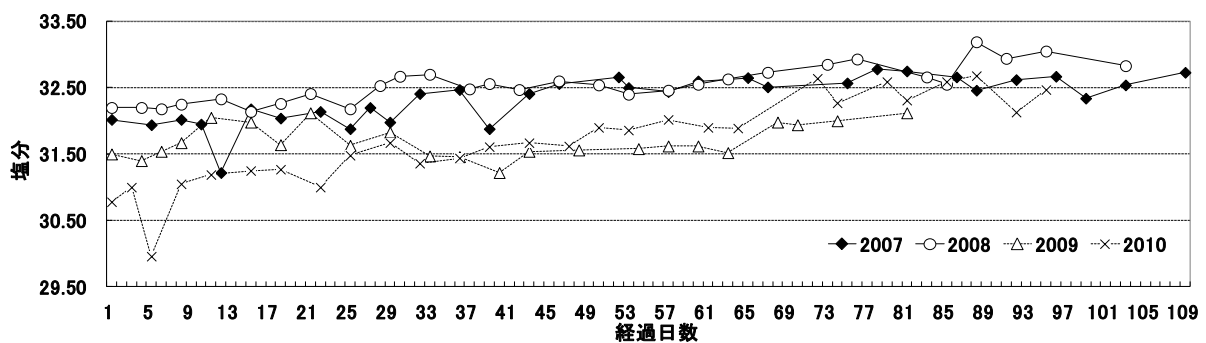


図 5 塩分の推移

冷凍網の開始日は 2007 年度は 59 日目、2008 年度は 57 日目、2009 年度は 54 日目、2010 年度は 53 日目

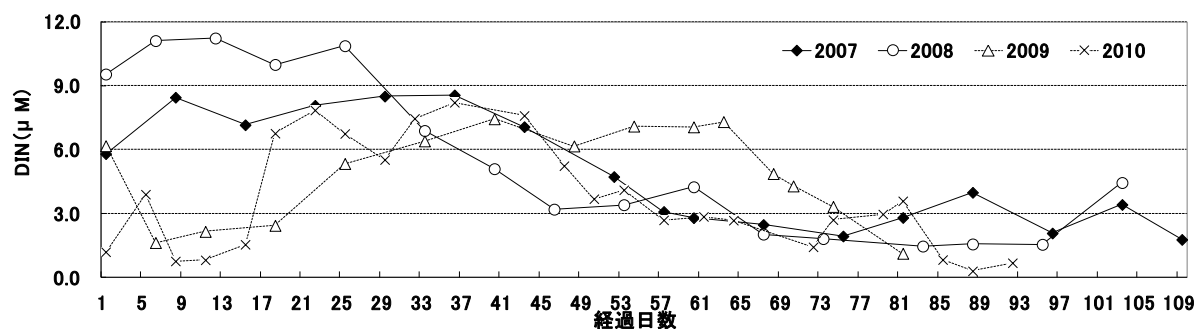


図6 DIN (溶存態無機窒素) の推移

冷凍網の開始日は2007年度は59日目、2008年度は57日目、2009年度は54日目、2010年度は53日目

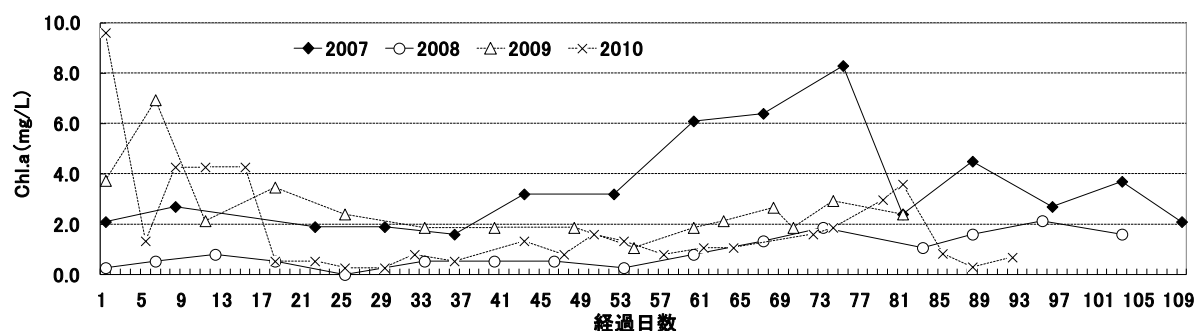


図7 クロロフィルaの推移

冷凍網の開始日は2007年度は59日目、2008年度は57日目、2009年度は54日目、2010年度は53日目

まとめ 以上から、育苗期の葉長、葉形、秋芽網期の葉長、葉形、葉厚、収量性、冷凍網期の葉形、葉厚、収量性については品種間の傾向が確認できた。しかし、育苗期には管理手法、冷凍網期には環境条件や食害などの影響が大きく、品種特性を評価しやすいのは秋芽網期であった。秋芽網期には葉長と葉形の評価が室内培養試験による評価と一致しており、室内培養試験による品種特性評価が野外で育成する際にも適用できる例を示したと言える。また、野外養殖試験では水温や塩分のように制御できない条件があり、評価が困難な形質があることや、生長不良のような原因不明の事象が生じることから、制御された環境下で行う室内培養試験の有効性が示された。一方で、栄養繁殖性や収量性のように、養殖に用いる際には重要な形質が必ずしも室内培養試験の評価と一致しなかったことから、品種を選択する際には漁場での特性を確認することが望ましいと言える。なお、野外養殖試験を行うにあたっては環境等による影響は避けられないが、採苗や育苗管理などの人的影響の排除および条件の安定した時期と漁場の選定については、今後の課題である。

## 文 献

- 川口 修・山本民次・松田 治・橋本俊也 (2004) 水質の長期変動に基づく有明海におけるノリおよび珪藻プランクトンの増殖制限元素の解明. 海の研究, 13 (2), 173-183.
- 川村嘉応 (2000) 養殖現場における選抜育種. 海苔の生物学, 成山堂, 東京, pp. 105-113.
- 杉野博之・清水泰子・野坂元道 (2007) 平成 18 年度ノリ養殖概況, 岡山水試報, 22, 159-161.
- 日本水産資源保護協会 (1981) 昭和 55 年度種苗特性分類調査報告書 (あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.
- 松岡 聡・吉松定昭・小野 哲・一見和彦・藤原宗弘・本田恵二・多田邦尚 (2005) 備讃瀬戸東部 (香川県沿岸) におけるノリ色落ちと水質環境. 沿岸海洋研究, 43 (1), 77-84.

### 4-3. 野外養殖法の違いによる結果の比較

横尾一成・山田秀樹・藤武史行・三根崇幸・久野勝利  
清水泰子・草加耕司・林 浩志

現在、日本各地で行われているノリ養殖は、養殖環境の特性を活かし、大きく2つの方法で養殖されている。一つは主に有明海海域で行われている支柱式養殖、もう一つは、北陸から九州までの広い範囲で行われている浮き流し式養殖である。

本章では実施した2種類の養殖方法による野外試験結果について、それぞれの評価結果を比較することで、養殖方法による評価の特徴を把握し、ノリ養殖品種の特性評価に活用することを目的とする。

#### 方 法

野外養殖試験結果のうち、品種間に傾向がみられた秋芽網期および冷凍網期の生長性(葉長)、葉形(葉長葉幅比)について年度毎の品種間の順位で比較した。

#### 結果および考察

秋芽網期における支柱式および浮き流し式での葉長の測定結果を図1に示す。品種間の順位は、2007年度が佐賀5号>U-51, 2008年度が佐賀8号>佐賀5号>U-51, 2009年度がU-51>佐賀5号>佐賀8号, 2010年度が佐賀5号>佐賀8号>U-51となり、すべての年で養殖方式に関係なく、葉長の品種間の順位は同じであった。

冷凍網期における支柱式および浮き流し式での葉長の測定結果を図2に示す。品種間の順位は、2007年度が佐賀5号>U-51, 2008年度が浮き流し式で食害被害のあった佐賀8号を除き佐賀5号>U-51, 2009年度が支柱式で色落ち被害があるため評価できず, 2010年度が生長不良の認められた佐賀5号を除き, 浮き流し式が佐賀8号>U-51, 支柱式がU-51>佐賀8号となり, 2007年度, 2008年度では養殖方式に関係なく, 葉長の品種間の順位は同じであったが, 2010年度は異なっていた。

秋芽網期における支柱式および浮き流し式での葉長葉幅比の測定結果を図3に示す。品種間の順位は、2007年度が佐賀5号>U-51, 2008年度が佐賀5号>佐賀8号>U-51, 2009年度がU-51>佐賀8号>佐賀5号, 2010年度が佐賀5号>佐賀8号>U-51となり、すべての年で養殖方式に関係なく、葉長葉幅比の品種間の順位は同じであった。

冷凍網期における支柱式および浮き流し式での葉長葉幅比の測定結果を図4に示す。品種間の順位は、2007年度が佐賀5号>U-51, 2008年度が浮き流し式で食害被害のあった佐賀8号を除き佐賀5号>U-51, 2009年度が支柱式で色落ち被害があるため評価できず, 2010年度が生長不良の認められた佐賀5号を除き, U-51>佐賀8号となり, すべての年で養殖方式に関係なく, 葉長の品種間の順位は同じであった。

育苗期は支柱式および浮き流し式ともにほぼ共通の方式で行われるので、漁場における品種特性の発現を調べるには適した期間と考えられる。そこで、2008～2010年度の葉長の日間伸長率を品種別に調べ表1に示した。初期値は「葉長」の章と同じく12 $\mu$ mとした。各品種の日間伸長率は最も高い年度においても、室内培養試験の結果を若干下回った。原因としては干出の影響等が考えられる。また、3品種とも有明海(支柱式)のほうが若干伸長率が高い傾向がみ

られた。品種間の葉長の順位は前述のように養殖年度によって異なったため、日間伸長率も年ごとに違いがみられたが、3年間の平均で見ると有明海では日間伸長率は大きい方から佐賀5号、佐賀8号、U-51の順であり、室内培養試験の結果と一致した。佐賀5号とU-51の差は1.4%と室内培養試験の差1.9%よりやや小さく、付近の網からの胞子の付着などが影響している可能性がある。瀬戸内海（浮き流し式）では、佐賀8号、U-51、佐賀5号の順となり室内培養試験の結果とは異なった。U-51は比較的塩分の高い千葉県漁場の品種であり、佐賀8号は有明海で使用されてきた品種ではあるが千葉県産原藻に由来するので塩分の高めの漁場にも適性を持っていると思われる。佐賀5号は、佐賀県有明海漁場に適した品種として選抜されており、「低塩分耐性」の章で示したように、幼芽については低めの塩分でよく伸びる特性を持っている。本書では高塩分適性についての研究は行っていないが、低塩分に適した佐賀5号は他の2品種と比較して高塩分条件では育苗期の生長が抑制される可能性がある。養殖試験を実施した瀬戸内海岡山漁場の育苗期の塩分は約32と有明海佐賀県漁場より塩分2程度高い傾向がみられるが、3年度のうち塩分の最も高かった2008年度にU-51と佐賀5号の日間伸長率の差が最も大きく、塩分の最も低かった2010年度に差が小さくなっていることからその可能性が推測される。

瀬戸内海浮き流し式の育苗期と秋芽網期を通期で調べると、佐賀5号の秋芽網期での生長が良いため、日間伸長率は、差は小さいが佐賀5号、佐賀8号、U-51の順（表1）となり、室内培養試験の結果と一致した。

表1 育苗期における葉長の日間伸長率

品種名	有明海（日間伸長率 %）				瀬戸内海（日間伸長率 %）				
	2008	2009	2010	育苗期平均	2008	2009	2010	育苗期平均	育苗期・秋芽網期通期の平均
U-51	36.3	36.3	37.4	36.7	30.8	35.3	37.0	34.4	28.7
佐賀5号	37.1	36.4	40.1	37.8	28.7	34.1	37.2	33.3	29.5
佐賀8号	37.3	35.5	38.6	37.1	32.0	35.1	39.5	35.5	29.0

以上のように、共通品種を用いて有明海で支柱式、瀬戸内海で浮き流し式の野外養殖試験を実施した結果、水温や塩分などの環境条件が大きく違うにもかかわらず、ほとんどの年度で養殖方法に関係なく品種間の順位が同じであった。このことから、養殖方法の違いが評価結果に大きな影響を及ぼすことは少ないと考えられた。もちろん水温や塩分および干出の影響などで品種間の特性の差があれば順位が異なることが予想されるが、例えば室内培養試験で基本的な特性について把握している品種であれば、どちらの養殖方法でも結果の相互評価は十分に可能と考えられる。



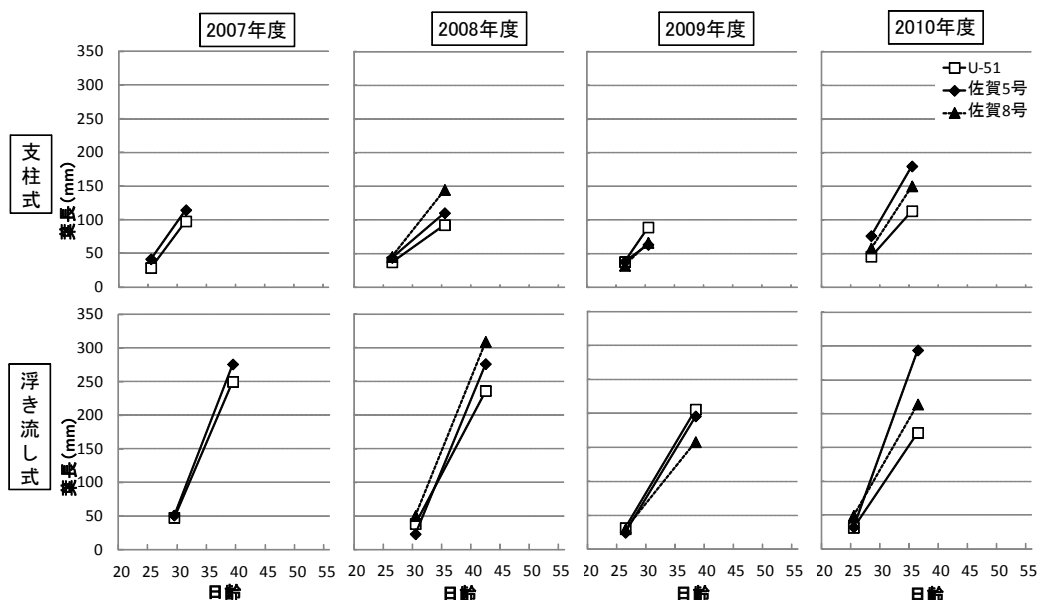


図1 秋芽網期における年度間および養殖方式間の3品種の葉長比較

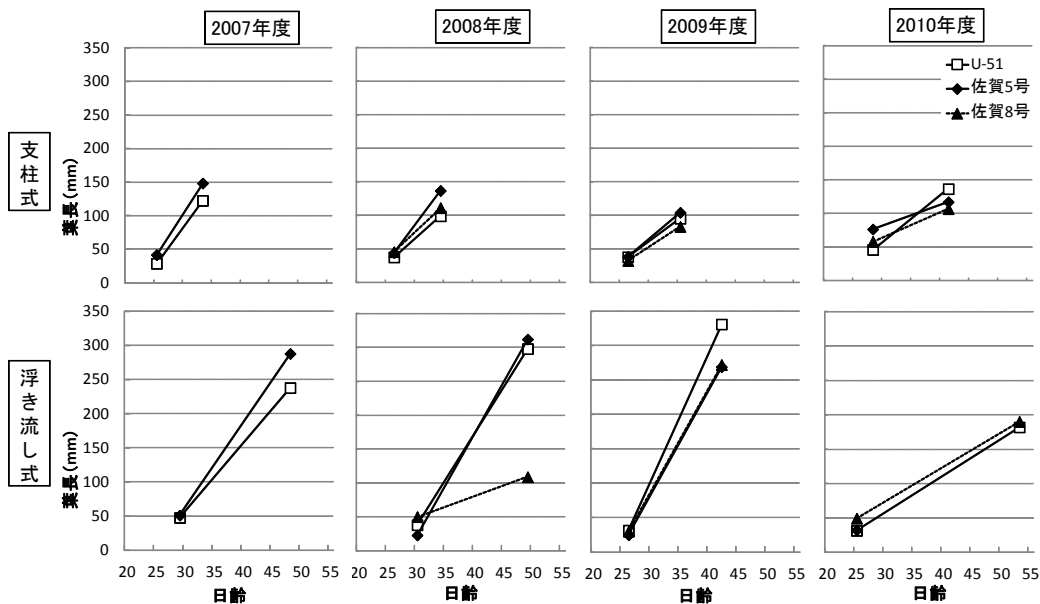


図2 冷凍網期における年度間および養殖方式間の3品種の葉長比較

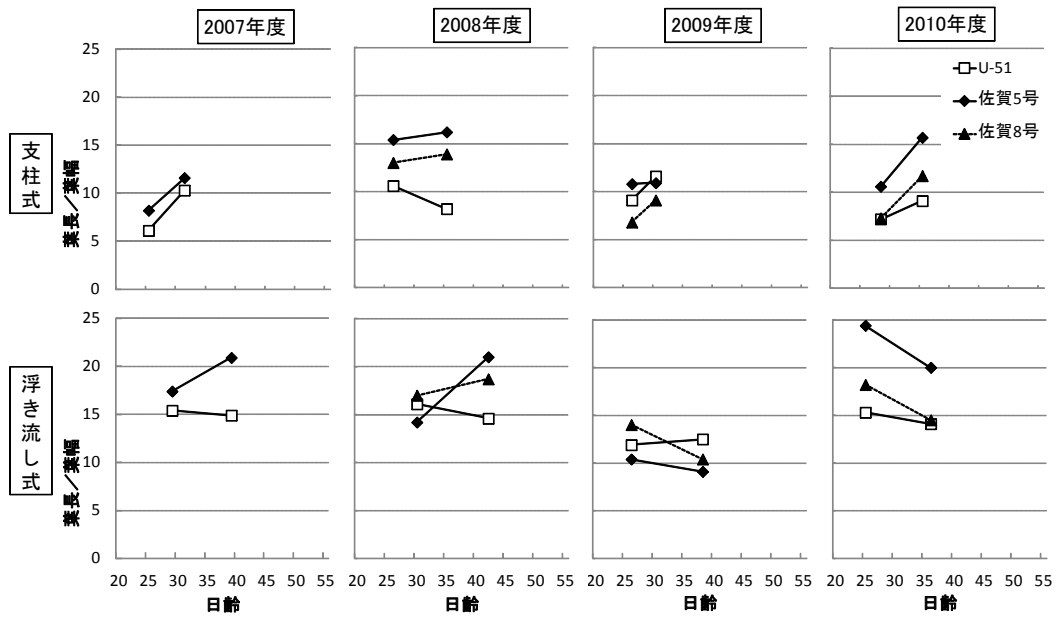


図3 秋芽網期における年度間および養殖方式間の3品種の葉長葉幅比の比較

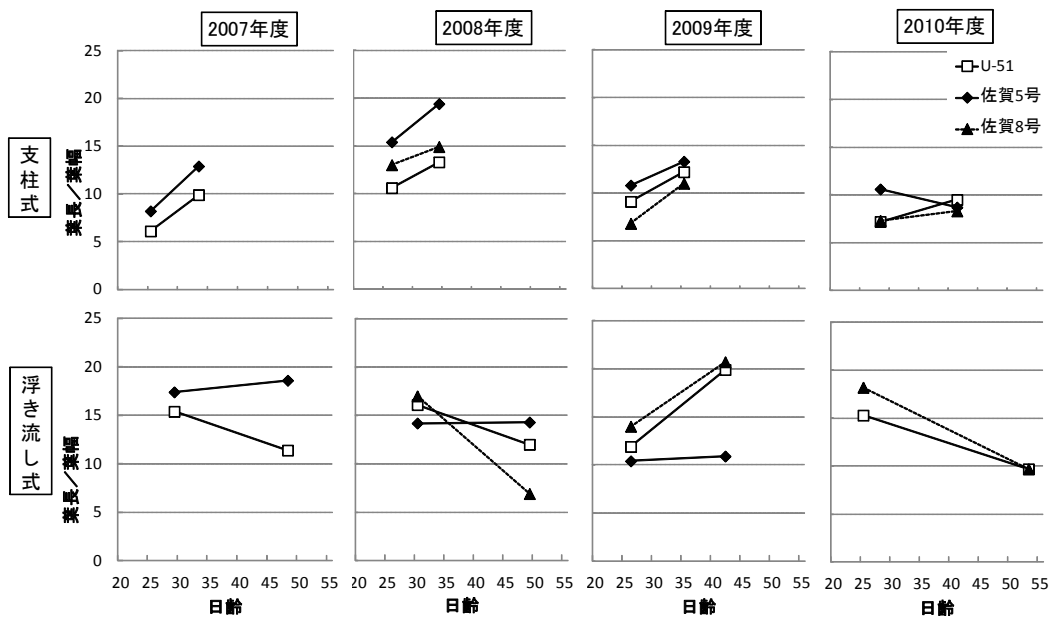


図4 冷凍網期における年度間および養殖方式間の3品種の葉長葉幅比の比較

## 4-4. 野外養殖試験における色調と呈味成分含量

玉城泉也・柿沼 誠・藤吉栄次・小林正裕

本章では、野外養殖試験試料における葉状体の色調と遊離アミノ酸含量およびヌクレオチド含量について測定・比較した結果についてまとめた。

### 方 法

平成 19 年度は U-51、佐賀 5 号及び有明 1 号の 3 品種、平成 20～22 年度は U-51、佐賀 5 号及び佐賀 8 号の 3 品種について、秋芽網期と冷凍網期に、支柱式漁場と浮流し式漁場においてそれぞれ 15cm 前後に生長した葉状体を用いて分析を行った。採取した試料は直ちに実験室へ持ち帰り、ペーパータオルで水分を除き、分析用試料として色調計測用の葉状体十数枚を選んだ後、乾燥重量、遊離アミノ酸およびヌクレオチド測定用をそれぞれ約 5g ずつ秤量し、湿重量を計測した。各試料は成分の変化を抑えるためドライアイスで直ちに凍結し、抽出・分析まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保管した。葉状体の色調、乾燥重量および水分含量の計測は室内培養試験試料と同様に実施した。

遊離アミノ酸の抽出は室内培養試験と同様に、各品種の遊離アミノ酸含量について、ポストカラム-OPA 法（励起波長 348 nm、検出波長 450 nm）により ShimPack Amino-Li カラムと HPLC（島津製作所(株)）を用いて各品種 1 検体を分析した。

ヌクレオチドの抽出は Noda *et al.* (1975) に従い、100ml の 75%エタノールを用いて  $90^{\circ}\text{C}$  で 3 回抽出を行い、全量を  $35^{\circ}\text{C}$ ・減圧下で蒸発させ数 ml の溶液とした。5%塩酸を用いて pH3.0 に調整後、ジエチルエーテルを用いて脂溶性成分を除去した。水層を減圧濃縮し、HPLC（島津製作所(株)）により ShimPack WAX-1 カラムを用いて分析した。ヌクレオチド濃度は 260 nm の紫外部の吸光度を測定し、AMP、IMP 及び GMP について標準試料とのピーク面積比から定量を行った。

### 結果および考察

2010 年度秋芽網期の支柱式および浮き流し式各漁場における、色落ちのない良好な色調の 3 品種の葉状体について色調を計測した結果と、比較のため室内培養試験で得た 3 品種の計測結果について、横軸を色相、縦軸を明度として改訂版色見本票上に示した（図 1）。3 品種の計測値に品種間の特性はみられず、どの品種も同程度の色調であった。各養殖方法とも、色相では 3YR～7YR の範囲に集中し、室内培養試験における計測値と比較して 3～5 程度黄色側に位置していた。明度では支柱式漁場が 4.3～4.8 の範囲、浮き流し式漁場が 4.9～5.0 の範囲となり、支柱式漁場は浮き流し式漁場と比較してやや色調が濃い結果が得られた。

年度毎、養殖方法毎および漁期毎の U-51 の色調の違いを図 2 に示した。良好な色調の葉状体と、色落ちが生じた場合の葉状体の色調は改訂版色見本票においてそれぞれ下端の明度 4、上端の明度 8 に該当した。また、色相については、赤みが強い場合の 9R から黄色みの強い 3Y の範囲に広がり、改訂版色見本票により野外養殖漁場におけるアマノリ葉状体の様々な色調を把握可能であることが示された。

遊離アミノ酸含量については  $3000\sim 7000\text{ mg}/100\text{ g}$  乾燥藻体（以下の遊離アミノ酸およびヌクレオチド含量は全て  $100\text{ g}$  乾燥藻体あたりの含量で示す）の範囲となった。品種間や試験年

度間での差はみられなかった。野田・岩田(1983)によると、支柱式漁場は浮き流し式漁場に比べて遊離アミノ酸含量が多いとされている。今回の分析結果では、2007, 2008 および 2009 年度の秋芽網期においては野田・岩田(1983)と同様に支柱式漁場で浮き流し式漁場より多い傾向がみられたものの、2010 年度秋芽網期は両漁場でほとんど差がみられなかった。また、養殖時期については、浮き流し式漁場において秋芽網期は冷凍網期より多い傾向がみられたものの、支柱式漁場において秋芽網期は冷凍網期より多いこと(2007 および 2009 年度)と、逆に秋芽網期は冷凍網期より少ないこと(2008 および 2010 年度)があった。また、ヌクレオチド含量については、品種間、試験年度間および養殖方法による差はみられなかったが、養殖時期では秋芽網期が冷凍網期より多い傾向が概ね認められた。これらの傾向は年度により異なり、一部の年度では差が小さいこともあった。

Noda *et al.* (1975), 野田・岩田(1983) および天野(1991)によると、野外養殖漁場において採集した葉状体の遊離アミノ酸含量は最大で5000 mg 前後の値となることが知られている。今回の野外養殖試験における4品種の分析値は、既往文献中の野外における分析値の範囲をやや上回る。これらの品種は、基本的培養条件下で行った室内培養試験ではいずれも遊離アミノ酸含量が4000 mg 近い値であったが、野外養殖試験においては4品種とも支柱式漁場において最大値で6000 mg を超える値が得られている。この要因としては、野田・岩田(1983)が示している、支柱式漁場における干出等の影響が考えられる。

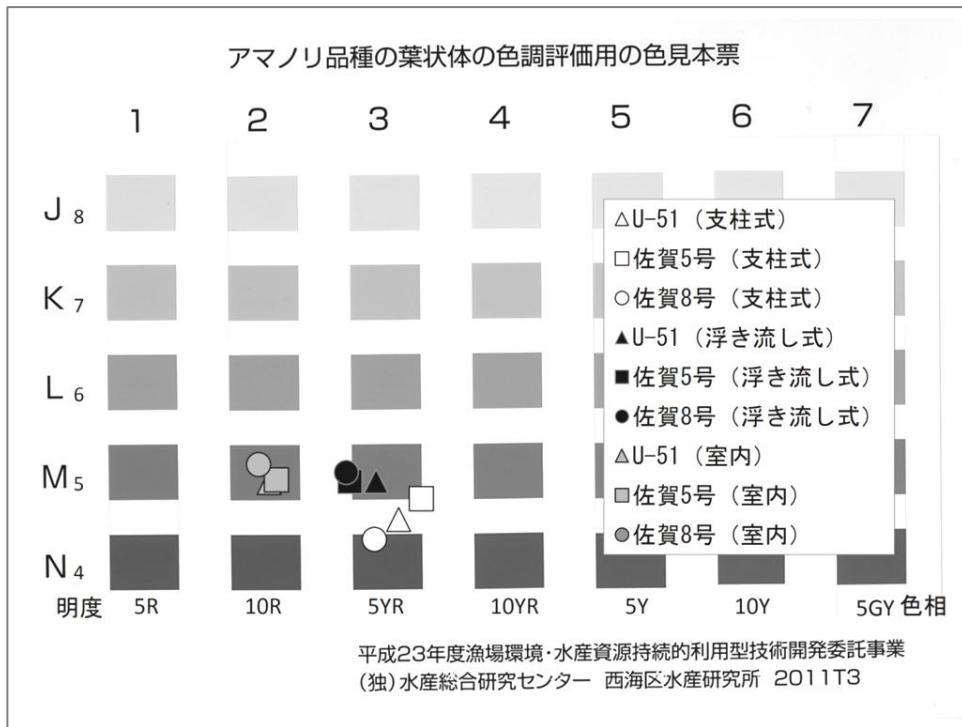


図1 2010年度秋芽網期に採取した葉状体の色調

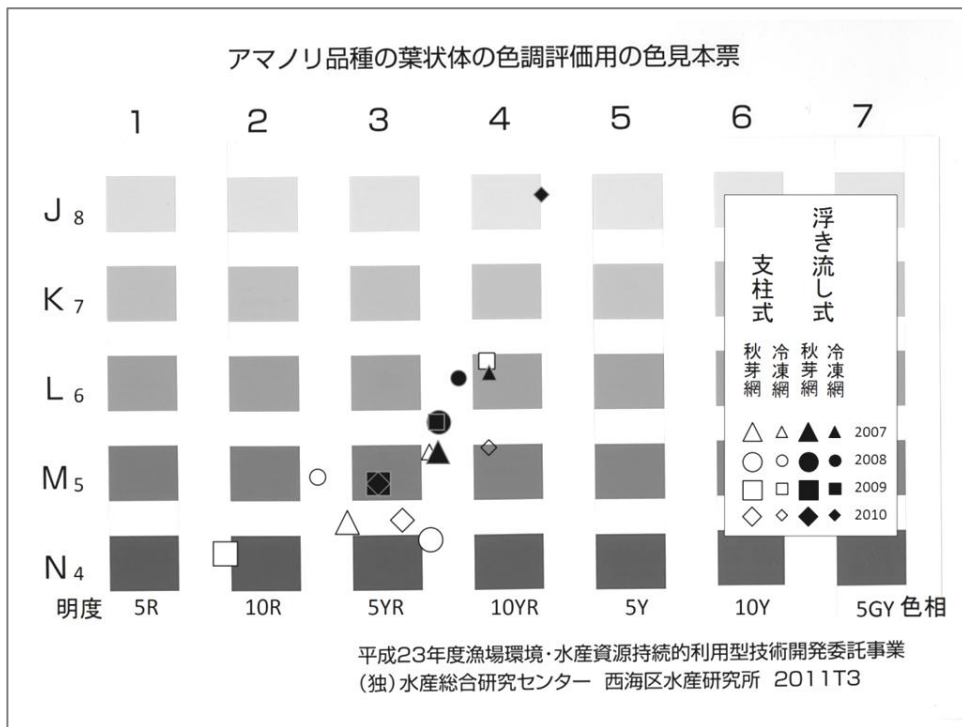


図2 年度毎、漁場毎および漁期毎に採集したU-51の色調

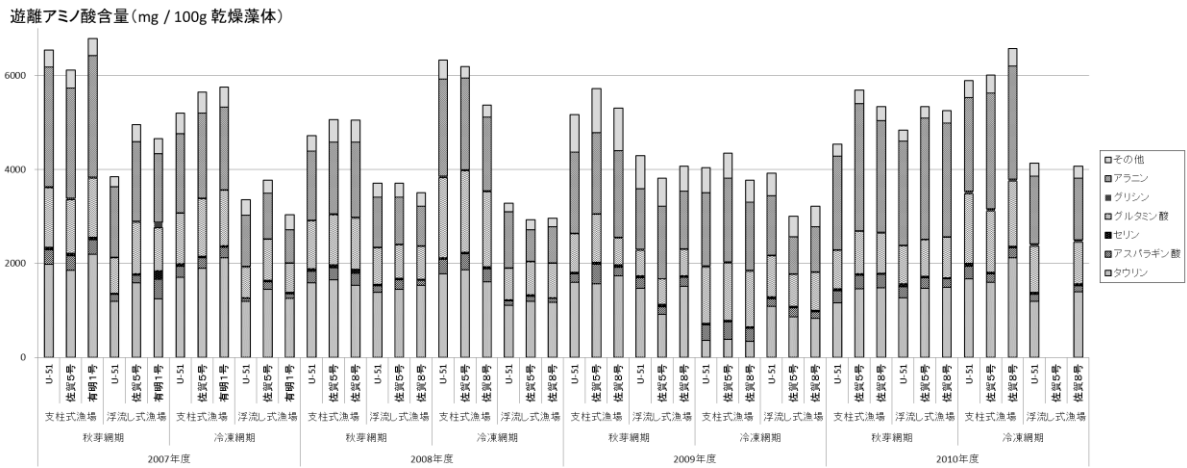


図3 野外養殖試験における各品種の遊離アミノ酸含量 (OPA 蛍光法による分析値)

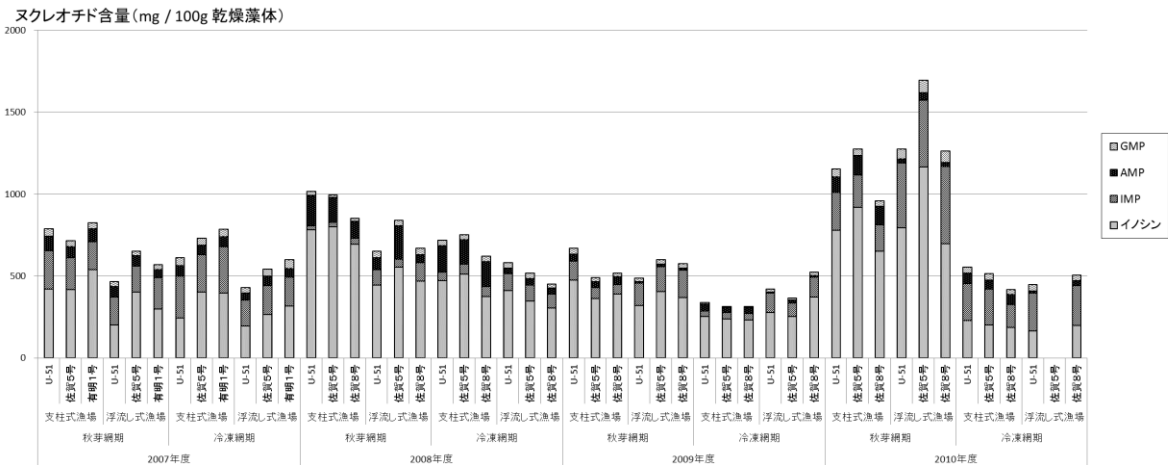


図4 野外養殖試験における各品種のヌクレオチド含量

## 文 献

- 天野秀臣 (1991) 海藻の生化学とバイオテクノロジー. 水産生物化学 (山口勝己編), 東京大学出版会, 東京, pp. 170-212.
- Noda H, Y. Horiguchi and S. Araki (1975) Studies on the Flavor Substances of 'Nori', the Dried Laver *Porphyra* spp. -II. Free Amino Acids and 5'-Nucleotides. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **41**, 1299-1303.
- 野田宏行・岩田静昌(1983) 新編・海苔製品向上の手引き. 全国海苔貝類漁業協同組合連合会, 東京, pp. 35-160.

## 4-5. 野外養殖試験実施要領（資料） —改訂版—

担当試験研究機関：佐賀県有明水産振興センター（有明海における支柱式養殖漁場）  
岡山県水産試験場（瀬戸内海における浮き流し式養殖漁場）

「野外養殖試験による特性及び環境条件の把握」については、原則として、「昭和 55 年度種苗特性分類調査報告（あさくさのり，すさびのりの栽培試験法）社団法人日本水産資源保護協会」の「Ⅲ 野外比較栽培試験実施要領」の試験方法に準じて実施する。

### 1. 対照（基準）品種：U-51

### 2. 採苗及び育苗

#### 1) 採苗の時期と測定方法等

- ・各々のフリー糸状体の必要量を、西海区水産研究所から担当試験研究機関に送付する。
- ・一般的採苗時期とほぼ同時期に、供試品種の採苗を開始する。
- ・ノリ網は、各県の養殖場で一般に供されている種類および規格のものをを用いる。陸上（室内）採苗を行い、1 品種につき 6 枚以上を育苗する。
- ・育苗出庫時に、10 cm 程度の網糸 3 本を切取って網糸への殻胞子付着数を調べる。実体顕微鏡を用いて倍率 100 倍で観察し、網糸の中央部 10 視野で 1 視野当たりの殻胞子数を平均 20 個程度とする。
- ・供試する 3 品種で芽数が違いすぎないことが重要である。

#### 2) 育苗の方法と測定方法等

- ・育苗中の試験網の張網の時期や場所などについては、他品種の原胞子の着生をなるべく少なくするよう考慮する。
- ・育苗方式および張網水位は各県の養殖場での一般的方法に準ずる。
- ・大型平均葉長が 2～3 cm に生育した時点で育苗を終了し、一般的方法で養成して本張りするもの以外は冷凍保存に移す。ただし、入庫タイミングは現場の状況により判断する。
- ・幼芽期には、育苗開始後 5 日目から週 1～2 回 10 cm 程度の網糸 3 本を切り取り、そのうちの 3 本を使用し、倍率 100 倍で 1 視野当たり（約 2.2mm）の幼芽数を計数する。網糸 1 本につき 5 視野を観察して、5 視野×3 本＝15 視野で平均値（x 個/cm）を求める。また、網糸 3 本のうちの 1 本を使用して、実体顕微鏡下で網糸中央部の表側における 1～30 葉体の葉長と葉幅を測定する。
- ・冷凍入庫時（葉長が 4～5 cm 程度）に、「あまのりの外形模式図」により葉形を判定する。また、長いものから 1～30 番目の葉長と葉幅を測定し、30 葉体の錯葉標本を作製する。幼葉期は冷凍入庫時の 1 回のみ測定とする。

#### 3) 二次芽の計数方法等

- ・実体顕微鏡観察時に、縦方向に分かれて横分裂するのが何細胞でみられるかを観察する。葉幅方向の最大細胞数が 20 細胞くらいになった頃に、二次芽数を調べる。

### 3. 野外養殖試験（秋芽網期・冷凍網期）

#### 1) 実施時期

・秋芽網期と冷凍網期の2回とする。なお、開始時期及び試験期間等の詳細については、各漁場の操業状況にあわせて実施する。

・漁場では他の品種の二次芽が混入する危険性があるので、基本的な特性調査は第1回目の摘採時までとする。ただし、稔性及び病害等の一部項目については、第2回摘採時まで調査を継続し、これらの項目が観察されたら‘+’として記録する。

・岡山県海域：9月までに供試品種の糸状体貝殻等の準備、試験漁場確保に関する漁協との調整等を完了し、10月に試験網を張り込んだ後、2～3月まで特性調査を継続する。

・佐賀県海域：9月までに供試品種の糸状体貝殻等の準備、試験漁場確保に関する漁協との調整等を完了し、10月に試験網を張り込んだ後、1月まで特性調査を継続する。

#### 2) 実施場所

・これまでの調査結果及び実績等をもとに、環境条件、ノリの生産及び生長等が比較的安定している海域を実施場所に選定すること、毎年同じ場所であること、及び同じ管理者であることが望ましい。

#### 3) 網の配置について

・岡山県海域及び佐賀県海域：中抜き3列で実施する。

#### 4) 特性評価

##### 4-1) 成葉の葉色

・秋芽網1日目及び2回目の摘採前に、葉体の片を色見本票（西海区水産研究所から提供）に照合して判定する。また、色彩キメラ個体が出現した場合には、キメラ部分の色および出現割合を記録し、さく葉標本を作成する。

・併せて色彩色差計を用いて、各10葉体について、L\*a\*b\*値を計測する。

##### 4-2) 成葉の葉形、葉長及び葉幅

・秋芽網期と冷凍網期の初回摘採前に、代表的な葉体として葉長約20cmの葉体（20cmに達しない場合は最大のもの）について、アマノリ類の葉形の判定方法と判定基準に基づいて葉形を判定する。

・秋芽網期と冷凍網期の初回摘採前に、長いもの（トビを含む）から1～30番目の葉長と葉幅を測定した後、さく葉標本を作製する。

#### 【アマノリ類の葉形の判定方法と判定基準について】

陸上植物や海藻類の形態に関する成書においても、葉形については摸式図が示されているだけで、詳細な形態の判定方法や基準値が示されていない。アマノリ類の葉形についても、実際には黒木宗尚・岩崎英雄（1976）の「図1.2 アマノリの外形と基部の形の摸式図」等により判定されているが、本事業ではより客観的な判定が出来るよう以下の判定方法と判定基準により葉形を判定する。

[判定方法] 錯葉標本にしたものの中から、全数の半分以上を占める形態（一つの形態で半数を超えない場合は、優占する2つの形態）について、以下の判定基準にもとづいて判定する。

なお、「楕円形（長楕円形、広線形、線形）」、「卵形（長卵形、披針形、線状披針形）」、「倒卵形（倒長卵形、倒披針形、線状倒披針形）」の区別が目視により困難な場合には、典型的な形態



の10標本について基部から最大葉幅の位置までの距離を測定して、その平均値で判定する。

また、「円形」、「楕円形（卵形、倒卵形）」、「長楕円形（長卵形、倒長卵形）」、「広線形（披針形、倒披針形）」、「線形（線状披針形、線状倒披針形）」の区別が目視により困難な場合には、典型的な形態の10標本について葉長／葉幅の比を測定して、その平均値で判定する。

[判定基準]

①葉長方向の形態変化

「楕円形、長楕円形、広線形、線形」は、基部から最大葉幅の位置までの距離が葉長の $1/3 \sim 2/3$ の中にある。

「卵形、長卵形、披針形、線状披針形」は、基部から最大葉幅の位置までの距離が葉長の $1/3$ を超えない。

「倒卵形、倒長卵形、倒披針形、線状倒披針形」は、基部から最大葉幅の位置までの距離が葉長の $2/3$ を超える。

②葉幅方向の形態変化

「円形」は、葉長／葉幅の比を $1.2 = >$ とする。

「楕円形（卵形、倒卵形）」は、葉長／葉幅の比を $1.2 <, 1.6 = >$ とする。

「長楕円形（長卵形、倒長卵形）」は、葉長／葉幅の比を $1.6 <, 2.5 = >$ とする。

「広線形（披針形、倒披針形）」は、葉長／葉幅の比を $2.5 <, 5.0 = >$ とする。

「線形（線状披針形、線状倒披針形）」は、葉長／葉幅の比を $5.0 <$ とする。

表1 アマノリの外形模式図における各形態の葉長／葉幅の比の測定結果

	区分		区分		区分		区分	
円形	1.2	楕円形	1.6	長楕円形	2.5	広線形	5.0	線形
1.0		1.4		1.8		4.1		7.1
		卵形		長卵形		披針形		線状披針形
		1.5		1.9		3.7		8.3
		倒卵形		倒長卵形		倒披針形		線状倒披針形
		1.5		1.9		3.5		8.3

※黒木宗尚・岩崎英雄（1976）の「図1.2 アマノリの外形と基部の形の模式図」の図における各形態の葉長／葉幅の比を測定した。

4-3) 葉厚

・秋芽網期と冷凍網期の初回摘採前に、葉長約20cm（20cmに達しない場合は最大のもの）の任意の10葉体を用いて、クリオスタットやカミソリ等で中央部の切片を作成し、顕微鏡下で断面の厚さを測定する。

#### 4-4) ねん性

- ・目視観察により大型葉体中に生殖斑の認められた場合には、その日付等とともに‘+’として記録する。なお、その場合には顕微鏡で観察し、確認しておくこと。
- ・第1回と第2回摘採前の30葉体（第1回目は錯葉用）について、生殖細胞形成個体率を調査する。

#### 4-5) 収量性

- ・ノリ網の一定面積の葉体を手で摘み取り、生重量を秤量し、網1枚当たりに換算する。ただし、各品種毎に網2枚を全て摘み取り、総生重量から網1枚当たりに換算する方法も可とする。

#### 5) その他

##### 5-1) 試験漁場の特性

- ・これまでの知見に基づき、試験漁場の海域特性を報告資料に記述すること。

##### 5-2) 試験期間中の病害等の発生

- ・病害等の緊急事態が発生した場合は、その状況をできるだけ詳細に記録すること。また、通常、漁場でとられる処置を行うこと。

##### 5-3) アミノ酸等分析用試料の採取と送付

- ・「アミノ酸等の成分特性」に供する試験葉体の分析試料を採取し、指定機関に送付すること。

## 4. 環境調査

### 1) 調査方法等

- ・週に1回程度実施する。調査場所は試験網の近くが望ましいが、近接する他の海洋観測点の調査結果をもってこれに代えることを可とする。ただし、佐賀県海域については、近接する海洋観測ブイの測定値も同様とする。

### 2) 水温、塩分等の現場調査項目

- ・水温、塩分、栄養塩等の標準的な項目について、現場調査の状況を記録する。
- ・両海域においてクロロフィル量や珪酸塩についても測定するとともに、植物プランクトンの優占種の出現状況を観察・記録する。

### 3) 環境調査データベースの作成

## 文 献

黒木宗尚・岩崎英雄(1976)ノリの生物学的研究. 改訂版浅海完全養殖, 恒星社厚生閣, 東京, pp. 1-49.

日本水産資源保護協会(1981)昭和55年度種苗特性分類調査報告書(あさくさのり, すさびのりの栽培試験法). 日本水産資源保護協会, 東京. 70pp.

※本要領は西海区水産研究所有明海・八代海漁場環境研究センター長(当時)小谷祐一氏を中心に、佐賀県有明水産振興センターおよび岡山県水産試験場(現岡山県農林水産総合センター水産研究所)と協議の上作成された。

## 5. 関連した知見

### 5-1. 陸上水槽での栽培

玉城泉也・小林正裕・藤吉栄次・吉田一範・中川雅弘・堀田卓朗・津崎龍雄

養殖品種の品種登録にあたっては、基準品種との特性の違いを実際の養殖漁場における野外養殖試験により示す必要がある。しかし、第4章においても述べられているように、野外養殖試験では水温や塩分、栄養塩濃度等の環境の変動が大きく、また病害や食害による影響もみられることがあり、葉状体の生長等の特性に関する試験結果が安定せず、期待していた品種間の特性の違いを見出せないことがある。一方、室内培養試験では野外の養殖漁場とは大きく異なる環境で培養を行うことから、色調などの品種特性が野外養殖試験のものと異なるという問題がある。そこで、野外養殖試験を一部代替することを目的として、環境要因をある程度制御可能と考えられる、陸上水槽を用いた養殖試験を試みてきた (Kobayashi *et al.* 2011)。今回、スサビノリ 2 品種を用いて室内培養試験に近い結果を得ることが出来たので、その概要を報告する。

#### 方 法

陸上養殖試験は、付近海域にノリ養殖場が存在しない長崎県五島市玉之浦町（福江島）の西海区水産研究所五島庁舎の陸上水槽において 2013 年 1 月に行った。室内培養試験において生長速度が異なるとされる 2 品種のスサビノリ (U-51 および女川スサビ) のカキ殻系状体から得た殻胞子をクレモナ網糸に採苗した。網糸は実験室内において 10 枝付きフラスコを用いて 17 日間の培養を行った。培養液は 1/2 SWM-III 改変培地を用い、基本的培養条件で培養を行った。この網糸を、インシュロックタイを用いて幅 26 cm の塩化ビニール製の枠に平行に 10 本取り付けした (図 1)。網糸を張った枠を、水が抜けるように加工した樹脂製平型容器 (縦 44.5×横 32.5×高さ 7 cm) の中に設置し、流速 10~20 cm/s 程度となるように濾過海水を常時掛け流し、屋外自然光下で栽培した (図 2)。網糸は水流と直交するように設置した。網糸の人工干出は行わず、約 8 日に一度の頻度で付着珪藻等を除去するために酸処理を行いながら 41 日齢まで栽培した。26, 34 および 41 日齢に網糸の回収を行って実験室へ持ち帰り、各区 40 枚の葉状体についてさく葉標本作製し、葉長と葉幅の計測を行った。

寺本・木下 (1969) によると、網糸は動揺が少ないほど幼芽の収量が多いとされることから、水流によって網糸が大きく動くことのないよう、網糸をきつめに取り付けた。また、平形容器の強度を維持しつつ、水流が容器内で渦を作らずに一方向に流れるようにするため、平形容器は外枠部分を残して短辺側の上部 1/3 程度を長方形に切り取って濾過海水が流出しやすいよう工夫した (図 2)。

#### 結果および考察

試験期間中の水温は 13.5~15.4℃と、ノリの培養に適した範囲であった。使用した海水の塩分は 33.7 前後、栄養塩濃度は窒素 5.8 μM、リン 0.4 μM 程度であった。

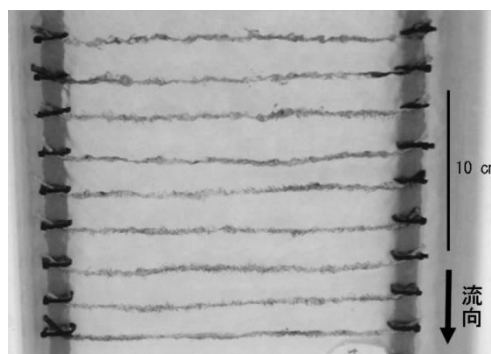
試験期間中の2品種の生長と比較するために、瀬戸内海の浮き流し式漁場における2009年度秋芽網期の野外養殖試験結果を図3に併せて示す。試験終了時の41日齢において2品種とも葉長10cmを超えるまで生長した(図4)。また、陸上養殖試験では26, 34および41日齢のいずれにおいても女川スサビはU-51より葉長が有意に大きかったが(図5)、室内培養試験の際の28日齢における2品種の葉長の違い(約1.8倍)と比較すると、その差は小さめであった。

また、U-51の生長は葉長2cm程度までは野外養殖試験の結果に近い値を示したが、その後の葉長は相対的に小さい傾向がみられた。同程度の日齢における陸上養殖試験と野外養殖試験の葉長の伸長速度を比較するために、葉長について野外養殖試験とほぼ同一日齢期の日間伸長率を両者で求めると、野外養殖試験においては18~25日齢および25~42日齢の日間伸長率はそれぞれ25.4および20.9%であったのに対して、陸上養殖試験においては17~26日齢および26~41日齢でそれぞれ28.5%および15.2%であり、前期では陸上養殖試験の結果が野外養殖試験のそれをやや上回ったが、後期では陸上養殖試験の結果が野外養殖試験のそれを下回った。この要因としては、陸上養殖試験において浅い容器を使用したため、生長に伴って葉状体先端部が隣り合う網糸や容器底部付近に接触することにより、葉状体先端部への物理的刺激が葉状体の生長に影響した可能性が考えられる。生長鈍化への対策としては、生長に伴う網糸間の距離拡大と、より深い容器への交換を随時行い、壁面等への接触を避けることが望ましいと考えられる。

葉状体の色調の計測結果では、マンセル表色系の色相については4.38 YRとなり、室内培養試験における値(1.12 YR)より、野外養殖試験時の色落ちしていない良好な色調のもの(6.29 YR)に近い値であった(図6)。明度については4.93となり、野外養殖試験における値(4.94)と同程度であった。溶存態窒素濃度は浮き流し式漁場における値に近く、濾過海水の流量を十分に保つことで、陸上水槽を用いても浮き流し式漁場に近い濃い色調の葉状体を培養することが可能であることが示された。

今回の陸上養殖試験では供試2品種の葉長などの生長特性の違いを見出すことに目的を絞り、掛け流し濾過海水と実験室で容易に入手できる簡便な装置を用いて栽培を行ったところ、葉状体の大きさによっては浮き流し式漁場と同程度の生長がみられ、色調も近い値であったことから、野外養殖試験の一部を代替できる可能性があることが示された。これら装置のさらなる改良により、環境変動や病害、食害の影響を受けない陸上養殖試験が実施可能になると考えられる。

図1 塩化ビニール製枠に取り付けた網糸



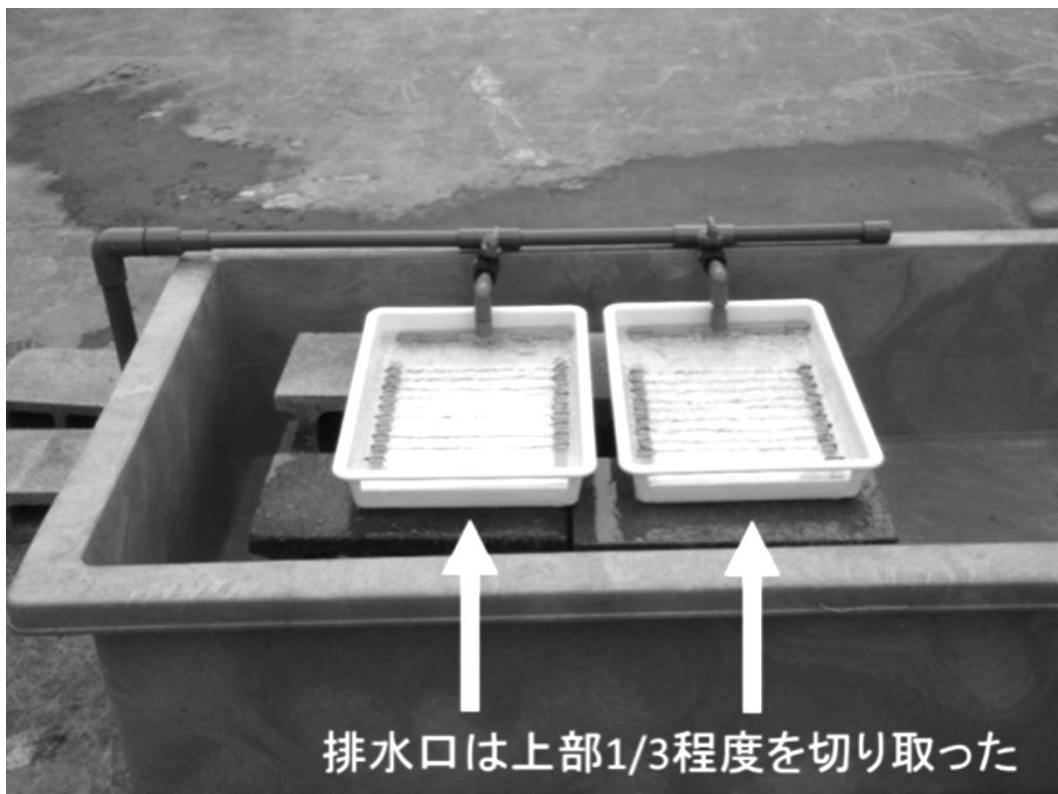


図2 陸上養殖試験水槽

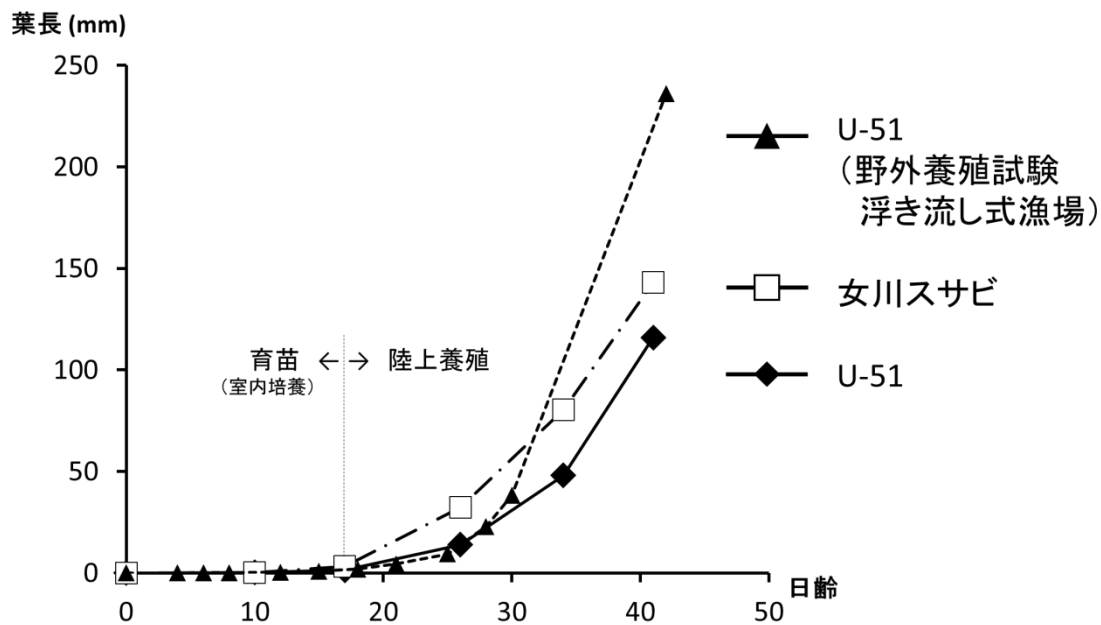


図3 陸上養殖試験における葉状体の生長



図4 41日齢の葉状体のさく葉標本  
左：U-51，右：女川スサビ

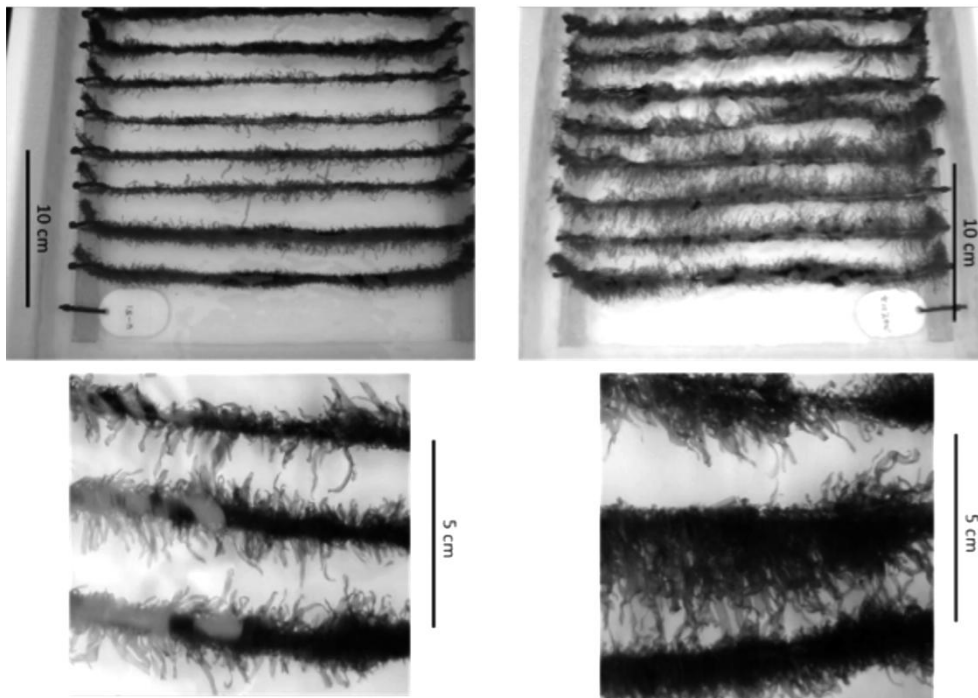


図5 培養中の26日齢の葉状体  
左：U-51，右：女川スサビ

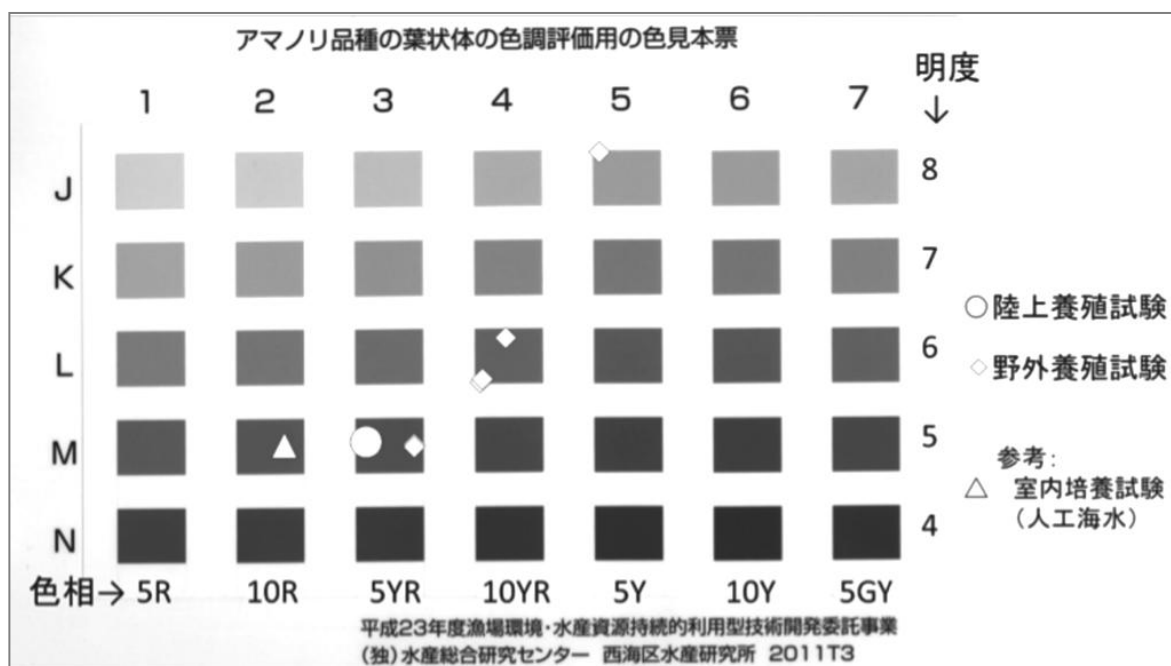


図6 U-51 葉状体の色調

### 文 献

- Kobayashi M., E. Fujiyoshi, M. Tamaki, M. Aritaki, H. Aono, Y. Nagakura, T. Noda (2011)  
 Preliminary study of outdoor *Porphyra* tank culture for the variety test. Proceedings  
 of the 6th Asian Pacific Phycological Forum, Yeosu, Korea, p. 185.
- 寺本賢一郎・木下祝郎 (1969) ノリ人工培養の一方法について (1). 藻類 17, 29-33.

## 5-2. ノリの発育に関与する細菌の単離と作用機構の解明

福井洋平・阿部真比古・小林正裕・里見正隆

大型藻類を無菌状態で培養するとその形態形成や生長が阻害され、特定の細菌が藻類の形態形成や生長に関与することが報告されてきた。細菌の大型藻類の形態形成および発育に及ぼす影響は、緑藻類のアオサを中心に研究が進められ、*Cytophaga-Flavobacterium-Bacteroides* グループに属する細菌株が、無菌の胞子の正常な形態形成を引き起こし (Matsuo *et al.* 2003)、サルシン (Thallusin) と呼ばれる特定の化合物が、その形態形成を促進することが報告されている (Matsuo *et al.* 2005)。ノリの室内培養の特性評価においても、ノリ藻体の形質が安定せず正確な試験結果が得られないことが報告されている。このことから、ノリの細菌叢がその形質や生長に対して影響を与えることが考えられてきた。これまでに、スサビノリの無菌化は糸状体で試みられ (Yamazaki *et al.* 1998)、 $\alpha$ -*Proteobacteria* に属する細菌が、無菌糸状体から放出された殻胞子の形態形成に関与することが報告されている (山崎ら 2000)。しかし、これらの文献では、抗生物質の添加をもって無菌化とみなしているが、一般的に抗生物質は必ずしもすべての細菌を抑制するわけではないことはよく知られており、これらの実験が厳密にどれほどの無菌化を達成しているかは不明である。本研究では、細胞壁を除去したノリ・プロトプラストの無菌化技術を構築し、その生残と生長に影響を及ぼす細菌の分離および作用機構を解明することを目的とした。

### 方 法

**無菌プロトプラストの分離法の確立** スサビノリ U-51 株の原胞子を栄養強化海水の 1/2SWM-III 改変培地で、温度 17°C、光強度 50  $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、明暗周期 10 時間明 : 14 時間暗の条件で培養し、葉長約 15 cm に生長させた後に、実験に供した。葉状体からのプロトプラストの分離には、湿重量 50~100 mg の葉状体を用い、プロトプラストの分離は以下に示す方法で行った。最初に、葉状体を 0.5 %クエン酸滅菌海水 (pH 2.0~2.3) により 90 秒浸漬処理した区と浸漬処理しない区を設け、それぞれの葉状体からプロトプラストの分離を行った。浸漬処理した葉状体は、滅菌海水で洗浄し、浸漬処理区と未処理区の葉状体をそれぞれ、カミソリで細断し、滅菌海水で 2 分間激しく攪拌し、葉状体懸濁液とした。次に、2 %パパイン溶液 (pH 7.5) を加え、30 分振盪した後、0.7 M マンニトール海水で数回洗浄した。そして、細胞壁溶解酵素液 (アガラーゼ、キシラーゼ、マンナーゼ各 1 U/8 ml; ヤクルト薬品工業) を加え、60~90 分振盪した。酵素処理液を 20  $\mu\text{m}$  メッシュで濾過し、メッシュ上に残った画分を細胞壁試料とした。濾過画分に対して 1000 rpm、5 分間の遠心分離を行い、得られたプロトプラストを 0.7 M マンニトール海水で数回洗浄した後、プロトプラスト懸濁液を作製した。

上記のプロトプラストの分離工程から、クエン酸未処理の葉状体懸濁液、クエン酸処理の葉状体懸濁液、クエン酸未処理のプロトプラスト懸濁液、クエン酸処理のプロトプラスト懸濁液の 4 つの試料を採取し、微生物試験に供試した。それぞれの試料の 10 倍希釈液列を作製し、適宜な希釈段の 100  $\mu\text{l}$  を Marine agar 2216 (BD) に平板塗抹し、20°C、2 週間の培養を行った。



**スサビノリ葉状体に存在する細菌の分離** スサビノリ U-51 株に存在する多様な細菌を分離するために、1/2SWM-III 改変培地を基礎培地とし、試料採取の 1 週間前に、抗生物質を加えない区、アンピシリン添加区 (10 mg/ℓ)、およびネオマイシン添加区 (10 mg/ℓ) の 3 つの試験区を設け、上記の条件で、葉状体の培養を行った。それぞれの 3 試験区から、葉状体の培養に使用した培地および葉状体を採取し、次に、プロトプラスト分離工程から得られた細胞壁およびプロトプラストを採取した。細胞壁懸濁液は、上記のメッシュ上に残った画分に滅菌海水を加え、2 分間激しく振盪し、調製した。それぞれの懸濁液の希釈液列を作製し、細菌の培養を行った。それぞれの試料由来の平板培地から、無作為に細菌集落を釣菌し、3 回の純粋分離を行い、計 259 株の細菌株を分離した。次に、それぞれの細菌株からゲノム DNA を以下の方法により抽出した。細菌集落を 1 % (v/v) Triton X-100 を加えた TE 緩衝液 (pH 8.0) 200 μl に懸濁し、100°C・5 分間、加熱した。その後、クロロホルムとイソアミルアルコールの混合液 (24:1 v/v) を等量加え、激しく混合した後、遠心分離 (15,000 rpm, 15 分, 4°C) し、上清を鋳型 DNA とした。次に、真正細菌のユニバーサルプライマー-27F および 1492R を用いて、16S rRNA 遺伝子の PCR 増幅を行った。鋳型 DNA (2 μl)、両プライマー (0.5 μM)、10×*Ex Taq* バッファー (1×)、dNTP ミックス (各 0.2 mM)、*Takara Ex Taq* (0.5 U) (Takara Bio)、および滅菌蒸留水が混合された計 20 μl の反応液で PCR を行った (BioRad)。PCR 反応条件は、95°C・3 分の熱変性の後、(熱変性 95°C・30 秒、アニーリング 55°C・30 秒、伸長反応 72°C・1 分) を 30 サイクル繰り返す、72°C・7 分間の伸長反応を行った。本プライマーセットによる増幅産物の有無は、2.0 % アガロースゲルを用いた電気泳動により確認した。この増幅産物を鋳型 DNA として、27F プライマーを用いたサイクル・シーケンシングにより、DNA sequencer model 3100 (Applied Biosystems) にて、16S rRNA 遺伝子塩基配列の前半約 700 bp を決定した。得られた配列のアライメントを Clustal X で作製し、MEGA5 によりそれぞれの配列の距離行列を算出し、98 % 以上の相同性を基準にグループ化した。各系統グループの代表株の塩基配列を、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 内のブラストを用いて検索し、綱レベルでの同定を行った。

#### スサビノリ・無菌プロトプラストと細菌株の混合

**培養** これまでにノリの培養液、葉状体表面、細胞壁およびプロトプラストの各部位から分離した計 259 菌株をプロトプラストへの添加試験に用いた。それぞれの菌株は、Marine broth 2216 (BD) で培養し、滅菌海水を用いて 10 倍希釈液を作製した。無菌プロトプラストは、葉状体を 0.5 % クエン酸海水に浸漬して、分離した。細菌と無菌プロトプラストの共培養のための培養液には、硝酸ナトリウム 100 mg/ℓ およびリン酸水素二ナトリウム 12 水和物 20 mg/ℓ を添加した滅菌海水を使用した。24 ウェルプレートに培養液およびプロトプラストをそれぞれ、1 ml および  $10^2$  細胞加え、その後、菌液を 10 μl ずつ加えた。また、対照の細菌未接種区では、滅菌海水で 10 倍希釈した Marine broth 2216 を 10 μl 加えた。培養は、上記の葉状体の培養と同様の条件で行った。6 週間の培養後、24 ウェルプレート内のプロトプラストの状態を倒立顕

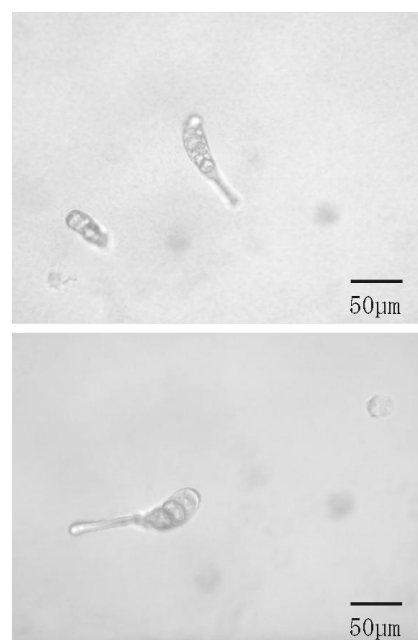


図1. スサビノリ・プロトプラストの正常再生体

微鏡で検鏡し、生残細胞数（未分裂の細胞および再生個体数）とそのうちの正常再生体数を計数した。正常再生体は、正常な再生、つまり細胞壁を形成した後、原胞子の発芽と同様に1本の仮根および正常な細胞分裂が観察される個体と定義した（図1）。生残率（%）および正常再生率（%）は、生残細胞数および正常再生体数をそれぞれ、接種細胞数で除して算出した。さらに、正常再生率の高かった菌株については、接種菌株がプロトプラストの発育促進に影響を与えているかを細菌学の見地から証明する（コッホの3原則）ために、再分離を行った。試験終了の6週目に、24ウェルプレートから培養液を採取し、Marine agar 2216で培養した。正常再生率の高かった菌株について、再分離された微生物集落のうち3つを釣菌し、純粋分離を繰り返して、保存した。

**プロトプラストの正常再生促進細菌の再分離と特異検出PCR法の開発** プロトプラストの正常再生率を高めた菌株はグループ3に属することから、本グループを接種した試験区から再分離された菌株が、同一であるか否かを調べるために、グループ3に特異的なPCR検出法を開発した。グループ3の16S rRNA遺伝子塩基配列を、ノリから分離された他のグループの代表株と比較した。グループ3に特異的な配列領域を見出し、本領域に対応するプライマーセットHF-HRを設計した。次に、代表株のゲノムDNA（2 μl）を鋳型とし、HFプライマー（0.5 μM）、HRプライマー（0.5 μM）、10×*Ex Taq* Buffer（1×）、dNTP Mixture（各0.2 mM）、*Takara Ex Taq*（0.5 U）、および滅菌蒸留水が混合された計20 μlの反応液でPCRを行った。PCR反応条件は、95℃・3分でDNAを熱変性させた後、（熱変性95℃・30秒、アニーリング55℃・30秒、伸長反応72℃・1分）のサイクルを30回繰り返し、伸長反応を72℃・5分間行った。本プライマーセットによる増幅産物の有無は、2.0%アガロースゲルを用いた電気泳動により確認した。HF-HRのプライマーセットの特異性が確認された後、グループ3の細菌を接種したウェルから再分離した菌株について、上記の特異検出PCR法による同定を行った。

### 結果および考察

**無菌プロトプラストの分離法の確立** クエン酸処理を行わなかった場合、葉状体懸濁液の上清では多数の微生物の集落が観察され、またプロトプラスト懸濁液においても微生物の集落が少数、観察された（図2）。それに対して、クエン酸処理を行った場合、葉状体懸濁液の上清、プロトプラスト懸濁液ともに、微生物の集落は観察されなかった。これらの結果から、プロトプラスト分離前に葉状体を0.5%クエン酸海水に浸漬・振盪することによって、微生物が検出限界以下まで無菌化されたプロトプラストを分離する方法を確立した。

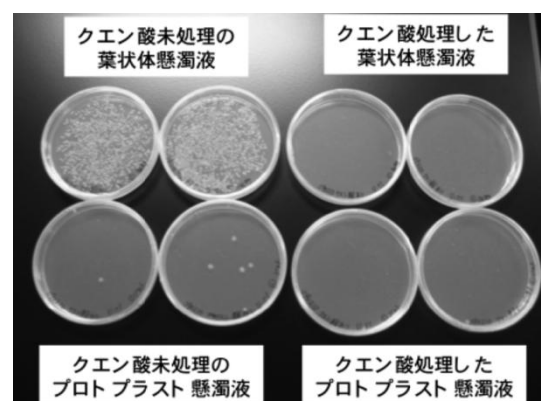


図2 Marine agar 2216による無菌化チェックの結果

表1 スサビノリ由来分離菌株の同定

分類網	グループ	菌株数
<i>α-Proteobacteria</i>	グループ1	44
	グループ2	1
	グループ3	24
	グループ4	6
	グループ5	12
	グループ6	2
	グループ7	5
	グループ8	17
	グループ9	11
	グループ10	14
	グループ11	1
	グループ12	16
<i>γ-Proteobacteria</i>	グループ13	62
	グループ14	9
	グループ15	27
<i>Flavobacteria</i>	グループ16	2
	グループ17	6

**スサビノリ由来分離菌株の同定** ノリ葉状体由来の各試料から分離された259菌株は、16S rRNA遺伝子の部分塩基配列に基づいて、17の系統グループに分けられた(表1)。これらの259菌株の配列は、データベース上の既知の配列との比較により、網レベルで、*α-Proteobacteria* の12グループ(グループ1~12)、*γ-Proteobacteria* の3グループ(グループ13~15)、*Flavobacteria* の2グループ(グループ16~17)に同定された。

**細菌接種によるプロトプラストの生残率と正常再生率の比較** 259菌株をそれぞれ、プロトプラストに接種し、系統グループごとの生残率と正常再生率の平均値を算出した(図3)。細菌を接種しなかったプロトプラストでは、その生残率は5.4%で、未分化の細胞またはカルスが観察されたが、正常再生体は観察されなかった。

したがって、無菌培養下において、ノリ・プロトプラストの正常な再生は阻害されることが考えられた。これまでに、無菌の糸状体から放出された殻胞子も、生長段階において正常な形態形成を失うことが報告されている(Yamazaki *et al.* 1998)。一方、細菌接種区では、細菌の系統グループによりプロトプラストの生残率と正常再生率は異なった。*α-Proteobacteria* のグループ2、*γ-Proteobacteria* のグループ13またはグループ14の細菌株を接種した場合、プロトプラストの生残率と正常再生率は低い値を示した。これらの細菌は、ノリ・プロトプラストの生長を促進しない細菌、あるいは阻害する細菌であると考えられた。一方、*α-Proteobacteria* のグループ3、グループ4またはグループ5の細菌を接種したとき、プロトプラストの生残率は17.7~21.2%で高い値を示した。また、グループ3の細菌を接種したときのプロトプラストの正常再生率は3.7%で最も高く、次いで、グループ4またはグループ5に属する細菌でも1.7~1.8%の比較的高い正常再生率を示した。以上の結果から、*α-Proteobacteria* に属する特定の菌群が、プロトプラストの生残および正常再生に特異的に作用することが考えられた。過去に、*α-Proteobacteria* の菌株が、殻胞子の葉体への形態および生長の回復に関与することが報告されている(山崎ら 2000)。しかし、我々が分離したグループ3、グループ4、およびグループ5のいずれの菌群も、新規の細菌種であることから(福井 未発表)、これらの菌群がスサビノリ・プロトプラストの生残および正常再生に及ぼす作用機構は、過去に研究された殻胞子に対するものと異なるかもしれない。

**プロトプラストの正常再生促進細菌の特異的検出PCR法の開発と再分離株への応用** グループ3の菌株を、スサビノリからこれまでに分離された他の16グループの菌株から区別するために、本菌の特異的検出用プライマーセットHF-HRを設計した。次に、本プライマーセットの特異性を調べたところ、グループ3に属する菌株のみを特異的に増幅することができた。また、本検出法を用いて、グループ3の細菌を接種した試験区から再分離された菌株について同定を行ったところ、これらの再分離株はグループ3と同一の細菌であることが確認された。

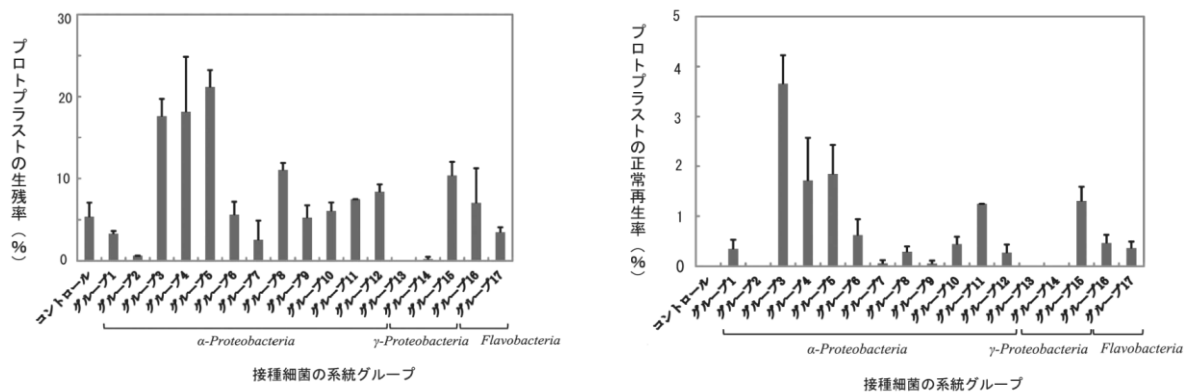


図3 接種細菌の系統グループにおけるノリ・プロトプラストの生残率と正常再生率の比較  
 左：生残率， 右：正常再生率

本研究では、スサビノリ葉状体をクエン酸海水に浸漬することで、無菌プロトプラストの分離が可能になった。無菌状態において、プロトプラストの正常再生体は観察されなかった。それに対して、*α-Proteobacteria* の特定の系統グループの細菌株は、プロトプラストの生残と正常再生を高め、さらに再分離されたことから、プロトプラストの生残と正常再生を促進する細菌として特定された。本研究では、プロトプラストの正常再生体に焦点を当てたが、細菌添加により、プロトプラストの生残細胞は、正常再生体以外に、未分化細胞、異常再生体、カルスなどの様々な形態に分化した。スサビノリ・プロトプラストの分化機構は明らかでないため、今後、これらの細菌のプロトプラストに対する作用機構の解明が期待される。さらに、スサビノリ・プロトプラストと細菌を利用することで、スサビノリの効率的かつ安定的な育種技術の開発が望まれる。

## 文 献

- Matsuo, Y., M. Suzuki, H. Kasai, Y. Shizuri and S. Harayama (2003) Isolation and phylogenetic characterization of bacteria capable of inducing differentiation in the green alga *Monostroma oxyspermum*. *Environ. Microbiol.*, 5, 25-35.
- Matsuo, Y., H. Imagawa, M. Nishizawa and Y. Shizuri (2005) Isolation of an algal morphogenesis inducer from a marine bacterium. *Science*, 307, 1598.
- Yamazaki, A., K. Nakanishi and N. Saga (1998) Axenic tissue culture and morphogenesis in *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.*, 34, 1082-1087.
- 山崎綾乃・関田諭子・半澤直人・奥田一雄・嵯峨直恆 (2000) 海産紅藻スサビノリ無菌培養株の成長促進・形態形成回復要因，特に馴化培地中の共生細菌の影響について．東海大学海洋研究所研究報告，21，57-76.

### 5-3. 紅藻ウシケノリ目の属の再編<sup>\*1</sup>

菊地則雄

乾海苔の原料であるアマノリが所属する紅藻ウシケノリ目 Bangiales は、ウシケノリ科 Bangiaceae 1 科からなり、形態などを基準とした従来分類では、直立した円柱状の配偶体を持つウシケノリ属 *Bangia* (Lyngbye 1819) と葉状の配偶体を持つアマノリ属 *Porphyra* (C. Agardh 1824) の 2 属が認められてきた。属内、科内で主要な形態的特徴がまとまっており、ウシケノリ目は長く 2 属からなる非常に良くまとまったグループとして認められてきた (Garbary *et al.* 1980, Gabrielson *et al.* 1985)。

近年、DNA 塩基配列のデータを用いた分子系統学的手法に基づく生物の分類の再検討が進み、海藻の分野でも、青海苔の原料となる緑藻のアオノリ属 *Enteromorpha* がアオサ属 *Ulva* と統合して、アオノリ属が消滅したり (Hayden *et al.* 2003, Shimada *et al.* 2003)、昆布の属する褐藻のコンブ科の属の再編が行われ、コンブ属の学名 *Laminaria* が *Saccharina* に変更になったりしており (Lane *et al.* 2006, 四ツ倉 2007)、一般の人たちにも馴染みのある食用藻類の分類も軒並み変更が加えられてきている。アマノリ属についても Stiller and Waaland (1993) による研究以降、多くの分子系統学的な研究が行われてきており、分子データを用いた新種の発見や、種の統合などが進められてきた (例えば、Stiller and Waaland 1996, Broom *et al.* 2002)。ウシケノリ属においては、同様に分子系統学的研究が行われてきた結果、直立する円柱状の配偶体を持つグループの一部を別の属とする提案もなされている (Müller *et al.* 2005, Nelson *et al.* 2005)。

そのような中で、Oliveira *et al.* (1995) を始めとしたこれまで出された多くの報告は、ウシケノリ目の中で、直立する円柱状の配偶体を持つグループ、すなわち従来ウシケノリ属と、葉状の配偶体を持つグループ、すなわち従来アマノリ属が、いずれも 1 つのまとまったグループとはならないことを示した。つまり、ウシケノリ属にしてもアマノリ属にしても、それぞれ、ひとつの属ではなく複数の属に分けられてしまう、ということである。さらにはアマノリ属とされてきた種には、属のレベルのみならず、その 2 つも上の目のレベルで異なっていると判断すべき種が含まれることが明らかになってきた (Nelson *et al.* 2003)。例えば哺乳類で言えば、同じニホンザルの仲間と思われていた種類の中に、ネズミくらいに違うものが含まれていた、というようなことになる。

そのようなことから、ウシケノリ目はウシケノリ属とアマノリ属の 2 属だけではなく、さらに多くの属に分けるべきという意見が多く出されてきた (例えば、Nelson and Broom 2005)。

このような流れの中で、ウシケノリ目内の正確な分類体系を構築するために、世界各地のウシケノリ目分類研究者が集まって、これまでに蓄積された分子データに基づいて世界中の種を見比べてウシケノリ目の属の再編を検討する会議が、2008、2009 年の 2 回に渡って開かれた。それらの会議で合意に至ったウシケノリ目の属の再編案は、アメリカ藻類学会の学会誌 *Journal of Phycology* 誌の 2011 年 10 月号に掲載された (Sutherland *et al.* 2011)。本稿では、その論文で示されたウシケノリ目内の属について、日本産の種に焦点を当てて、一部その後の結果も含めて概説する。

<sup>\*1</sup> 菊地 (2012, 2013) を改訂したものである。

## Sutherland *et al.* (2011) に示されたウシケノリ目の属とその和名

Sutherland *et al.* (2011) は、核内の遺伝子である SSU rRNA と、葉緑体内の遺伝子である *rbcL* 遺伝子の塩基配列に基づいたウシケノリ目藻類 157 分類群の系統解析の結果から、ウシケノリ目に 15 属を認めた。表 1 に 15 属を掲げ、それぞれの和名も付した。

15 属のうち、7 属がウシケノリタイプで直立した円柱状の配偶体を持ち、8 属がアマノリタイプで葉状の配偶体を持つ。この研究に用いた日本産の種は、ウシケノリタイプ 3 属、アマノリタイプ 4 属に含められた。

### (1) ウシケノリタイプの属

ウシケノリタイプの属は、長く *Bangia* 属 1 属であったが、分子データ等に基づき *Pseudobangia* 属 (Müller *et al.* 2005)、*Dione* 属と *Minerva* 属 (Nelson *et al.* 2005) が独立した。今回、これら 4 属の他に、新たに 3 属が認められるという結果が出された。その 3 属の学名については、Sutherland *et al.* (2011) では正式な属の発表は行われておらず、‘*Bangia*’ 1, ‘*Bangia*’ 2, ‘*Bangia*’ 3 と表記されるに留まった。

日本産ウシケノリ属には海産のウシケノリ *Bangia fuscopurpurea*、フノリノウシゲ *B. gloiopeltidicola* と淡水産のタニウシケノリ *B. atropurpurea* の 3 種の生育が知られている (吉田・吉永 2010, 岡田 1944)。これらの 3 種は、表 2 に示したとおり、Sutherland *et al.* (2011) では、ウシケノリが ‘*Bangia*’ 2 に、フノリノウシゲが ‘*Bangia*’ 3 に入り、タニウシケノリは、Sutherland *et al.* (2011) の論文中には示されていないが、日本でこの種の生育が確認されている 2 地点のうち、山梨県南巨摩郡早川町の雨畑川支流産の個体の DNA 解析結果は、ヨーロッパ産 *Bangia atropurpurea* の解析結果とほぼ一致し (Sutherland 私信)、*Bangia* に入ることになる。従って、現時点では、3 種は *Bangia* 属で変更されていないが、将来的にはウシケノリとフノリノウシゲは、それぞれ別の属となる可能性が高い。

### (2) アマノリタイプの属

アマノリタイプの種については、Kjellman (1883) が 2 層の細胞からなる種をまとめて *Diploderma* 属 (後に *Wildemanina* 属 (De Toni 1890) に変更) を提唱したこともあるが、1900 年代以降はほぼ *Porphyra* 属 1 属とみなされてきた。Sutherland *et al.* (2011) においては、それが 8 属に分けられた (表 1)。この研究で使用された日本に産するアマノリタイプの種 22 種は、*Boreophyllum* 属、*Miuraea* 属、*Pyropia* 属、*Wildemanina* 属に分かれた。それぞれの属の和名は、それぞれの属のタイプ種 (その属を決めるために指定されたひとつの種) が日本に産する場合はその和名を当て、それに該当しない *Boreophyllum* 属については、その属に属する唯一の日本産種であるマクレアマノリの和名を使用して、*Boreophyllum* 属をマクレアマノリ属、*Miuraea* 属をアカネグモノリ属、*Wildemanina* 属をベニタサ属とした。

表1 Sutherland *et al.* (2011) で改訂されたウシケノリ目内の属

配偶体の形状	従来の属	改訂後の属
円柱状	<i>Bangia</i> ウシケノリ属	<i>Bangia</i> ウシケノリ属 ' <i>Bangia</i> '1 (未記載) ' <i>Bangia</i> '2 (未記載) ' <i>Bangia</i> '3 (未記載)
	<i>Dione</i>	<i>Dione</i>
	<i>Minerva</i>	<i>Minerva</i>
	<i>Pseudobangia</i>	<i>Pseudobangia</i>
葉状	<i>Porphyra</i> アマノリ属	<i>Boreophyllum</i> マクレアマノリ属 <i>Clymene</i> <i>Fuscifolium</i> <i>Lysithea</i> <i>Miuraea</i> アカネグモノリ属 <i>Porphyra</i> ポルフィラ属 <i>Pyropia</i> アマノリ属 <i>Wildemania</i> ベニタサ属

表2 Sutherland *et al.* (2011) に基づいた日本産ウシケノリ目藻類の所属

配偶体の形状	属	種	備考		
円柱状	<i>Bangia</i> ウシケノリ属	<i>Bangia atropurpurea</i> タノウシケノリ	淡水産		
	' <i>Bangia</i> '2 (未記載)	<i>Bangia fuscopurpurea</i> ウシケノリ	海産		
	' <i>Bangia</i> '3 (未記載)	<i>Bangia gloiopeltidicola</i> フノリノウシゲ	海産, 紅藻フノリ類に着生, 仮根は分枝する		
葉状	<i>Boreophyllum</i> マクレアマノリ属	<i>Boreophyllum pseudocrassum</i> マクレアマノリ	旧フタツボシアマノリ亜属		
	<i>Miuraea</i> アカネグモノリ属	<i>Miuraea migatae</i> アカネグモノリ	旧ヒトエアマノリ亜属		
	<i>Porphyra</i> ポルフィラ属	<i>Porphyra angusta</i> コスジノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, DNA 未解析	
		<i>Porphyra akasakae</i> ムロネアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, DNA 未解析	
		<i>Porphyra irregularis</i> エリモアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, <i>Pyropia</i> の可能性大	
		<i>Porphyra ochotensis</i> アナアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, DNA 未解析	
		<i>Porphyra okamurae</i> クロノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, DNA 未解析	
		<i>Porphyra punctata</i> スナゴアマノリ		旧フタツボシアマノリ亜属, DNA 未解析	
		<i>Porphyra yamadae</i> ツクシアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属, <i>Pyropia</i> の可能性大	
		<i>Pyropia</i> アマノリ属	<i>Pyropia crassa</i> アツバアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia dentata</i> オニアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia ishigocola</i> ベンテンアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia katadae</i> ソメワケアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia kinositae</i> ウタスツノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia kumiedae</i> マルバアサクサノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia kurogii</i> チシマクロノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia lacerata</i> ヤブレアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia moriensis</i> カヤベノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia onoi</i> オオノノリ		旧フタツボシアマノリ亜属
			<i>Pyropia pseudolinearis</i> ウップルイノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
			<i>Pyropia seriata</i> イチマツノリ		旧ヒトエアマノリ亜属
	<i>Pyropia suborbiculata</i> マルバアマノリ			旧ヒトエアマノリ亜属	
	<i>Pyropia tanegashimensis</i> タネガシマアマノリ			旧ヒトエアマノリ亜属	
	<i>Pyropia tenera</i> アサクサノリ		旧ヒトエアマノリ亜属		
	<i>Pyropia tenuipedalis</i> カイガラアマノリ		旧ヒトエアマノリ亜属		
	<i>Pyropia yezoensis</i> スサビノリ		旧ヒトエアマノリ亜属		
	<i>Wildemania</i> ベニタサ属	<i>Wildemania amplissima</i> ベニタサ		旧フタエアマノリ亜属	
		<i>Wildemania occidentalis</i> キイロタサ		旧フタエアマノリ亜属	
		<i>Wildemania variegata</i> フイリタサ		旧フタエアマノリ亜属	

(補足) ダンシサイ (外国種, 壇紫菜) は *Pyropia haitanensis* に変更された。

*Pyropia* 属の和名はアマノリ属とした。日本では、これまで「食用となるノリ(海苔) = *Porphyra* = アマノリ属」という形で広く紹介され、定着してきている。今回の属の再編では、Sutherland *et al.* (2011) で用いられた 157 分類群のうち半数近い 77 分類群が *Pyropia* 属に含まれ、ウシケノリ目中最も種数の多い属と考えられる上に、日本産の種に関しても、養殖種として乾海苔の主要な原料となっているスサビノリ *Pyropia yezoensis* やアサクサノリ *Py. tenera* をはじめ、研究に用いた 22 種のアマノリタイプのうち 17 種が含まれている。属の和名は最初に付けられた属名との対応を維持するのが慣例であり、本来ならば「*Porphyra* = アマノリ属」と従来のままとするのが普通であるが、「ノリ(海苔) = アマノリ属」というこれまでの一般的な認識を継続し産業への影響を最小限に留めるため、*Pyropia* 属をアマノリ属と呼ぶことを提案した。ただし、以下の文章では、従来のアマノリ属と区別するため、*Pyropia* 属の和名を「新アマノリ属」、これまでのアマノリ属を「旧アマノリ属」と表記する。

表 2 に、Sutherland *et al.* (2011) に基づき、日本産の旧アマノリ属 29 種(吉田・吉永 2010)の所属を示した。マクレアマノリ属 *Boreophyllum* に 1 種、アカネグモノリ属 *Miuraea* に 1 種、新アマノリ属 *Pyropia* に 17 種、ベニタサ属 *Wildemanina* に 3 種が入っている。残りの 7 種は、材料が入手できなかったことなどから DNA 解析が行えず、Sutherland *et al.* (2011) では所属を明らかにできなかったが、その後の研究によりツクシアマノリは *Pyropia* 属に変更されることが提案されており(玉城ら 2012)、また、エリモアマノリも同様である可能性が指摘されている(菊地ら 2013)。いずれにしても、これらの種は、正式な属の変更が発表されるまでは *Porphyra* 属に据え置かれている。しかし、Sutherland *et al.* (2011) で取り上げられ正式に *Porphyra* 属に残された種や未記載の分類群は、ヨーロッパもしくは南半球の中・高緯度の地域で採集されたもののみであるということから考えると、ツクシアマノリとエリモアマノリ以外の種に関しても今後の研究次第では別の属に移り、*Porphyra* は日本産種がひとつも含まれない属となる可能性が高い。そのため、再編後の *Porphyra* 属の和名はひとまずポルフィラ属としている。

### 今後の課題

Sutherland *et al.* (2011) で提案された属の再編は、DNA 解析の結果を基にしたものであり、1 属 1 種の属を除き、属内で形態学的な特徴がほとんどまとまっておらず、従来の形態による特徴でまとめられていた種が別々の属に分けられたケースもある。例えば、旧アマノリ属では、属の下に、ヒトエアマノリ亜属 *Porphyra* (葉状体は 1 層細胞で、1 細胞に葉緑体が 1 個ある)、フタツボシアマノリ亜属 *Diplastidia* (葉状体は 1 層細胞で、1 細胞に葉緑体が 2 個ある)、フタエアマノリ亜属 *Diploderma* (葉状体は 2 層細胞で、1 細胞に葉緑体が 1 個ある) の 3 亜属が認められてきた(Kurogi 1972)が、各亜属の特徴に当てはまる種が、今回の属の再編ではアマノリタイプの各属に分かれた。例えば、フタエアマノリ亜属の種のうち日本産 3 種は全てベニタサ属に移され、外国産種の一部は *Fuscifolium* 属に移された。また、フタツボシアマノリ亜属とされてきた日本産 3 種のうち、DNA 解析を行った 2 種は、それぞれマクレアマノリ属と新アマノリ属に分けられた。従来の分類体系で重視されてきた形態学的特徴が、分類の際の特徴として使用できなくなってきたこと、今後、各属を定義するための分子データ以外の特徴を再検討していく必要がある。

また、今回の解析では、正式な種名が付けられていない材料が多数使用されている。これらは、今回の発表で扱われなかった種のいずれかに当てはまる可能性もあるが、多くはこれまで種として記載されていないものである可能性が高い。今後、詳細な形態学的観察を行って、これらの種の実体を明らかにする必要がある。日本産の種について言えば、まずは上記のコスジ



ノリなど7種の所属の確定が必要である。

一方、分子系統解析が行われるようになってから、ウシケノリ目藻類では、形態学的には同一種と同定されてきたが、分子データでは種のレベルで異なるとされる個体の存在が多数報告されている（例えば、Broom *et al.* 2004, Lindstrom 2008）。日本でも、スサビノリやアサクサノリと近縁と考えられるが、分子データでは別種と考えられる分類群が複数存在することが報告されており（Niwa *et al.* 2009）、極端な例では、形態学的にも生態学的にもスサビノリと区別できないが、分子データでは、いずれもスサビノリとは別種と考えられるアマノリタイプの2分類群が、全く同じ場所に、しかも葉状体の出現季節も全く同じに生育する場合があることも明らかになった（Niwa *et al.* 2014）。これらの分類群は、形態学的には区別できないが分子データに種レベルでの違いが認められる「隠蔽種」（cryptic species）と解釈される。このような隠蔽種の存在は、体の作りが単純で分類を行うための特徴に乏しいウシケノリ目藻類において、形態による種の同定のみならずDNA解析によるそれも容易ではないことを示しており、今後のウシケノリ目の分類の検討の際には、常に念頭に置く必要があると思われる。従って、今後、ウシケノリ目の分類をより明確にするためには、タイプ標本の分子データを決定して分子データ上の「種」を明確にした上で、多くの産地からの多くの個体を収集して、分子及び形態等の情報の蓄積を行い、比較検討することが必要不可欠である。さらには、糸状体世代の特徴も含む生活史などの生態学的データ、生化学的なデータなど、これまであまり検討されてこなかった様々な面でのデータの蓄積と比較検討も必要になるであろう。

また、上記のように隠蔽種と解釈せざるを得ない場合も増えてくると思われるが、隠蔽種はノリ養殖では水産遺伝資源としての活用が期待される。例えば、現在ノリ養殖に使われている主要な品種であるナラワスサビノリ *Py. yezoensis* f. *narawaensis* は、遺伝的には非常に均一であり、養殖現場で「品種」と呼ばれている保存培養株間で、遺伝的な差異はほんのわずかなことが知られている（Niwa and Aruga 2003, 2006, Niwa *et al.* 2004）。すなわち現在全国各地で養殖されているノリは遺伝的な多様性に乏しいのである。このような状況で、自然環境の変化があつて、もし仮にナラワスサビノリの生存に耐えられないような環境に変わってしまったとすれば、遺伝的な多様性に乏しいナラワスサビノリは生き残れない状況が生まれるかもしれない。そのようなことがあるとノリ養殖が全滅に近い打撃を受けることは必須である。このような将来的な懸念も見据えて、遺伝的に多様な養殖対象種を見つけておくことは非常に重要である。形態や生態的には同じである（養殖の仕方等が今と変わることなく行えて、かつ乾海苔にしたときに現在の製品とあまり変わらないものができる可能性がある）が、遺伝的には異なる（遺伝的な多様性が見られ、環境の変化にも耐えられる株ができる可能性がある）隠蔽種は、その候補のひとつと言える。

従って、「種」の様々な情報を蓄積していくことは、単に「系統・分類」といった基礎生物学的な話にとどまらず、産業的にも非常に重要な意味を持つと言えるだろう。

## 文 献

- Agardh, C. A. (1824) *Systema Algarum*. Literis Berlingiana, Lund.
- 岡田喜一 (1944) 日本淡水産ウシケノリ属の一種タニウシケノリに就いて. 植物研究雑誌 20, 201-204.
- Oliveira, M. C., J. Kurniawan, C. J. Bird, E. L. Rice, C. A. Murphy, R. K. Singh, R. R. Gutell and M. A. Ragan (1995) A preliminary investigation of the order Bangiales (Bangioophycidae, Rhodophyta) based on sequences of nuclear small-subunit ribosomal

- RNA genes. *Phycol. Res.* 43, 71–79.
- Garbary, D. J., G. I. Hansen, and R. F. Scagel (1980) A revised classification of the Bangiophyceae (Rhodophyta). *Nova Hedw.* 33, 145–166.
- Gabrielson, P. W., D. J. Garbary and R. F. Scagel (1985) The nature of the ancestral red algae: inferences from a cladistic analysis. *BioSystems* 18, 335–346.
- 菊地則雄 (2012) 紅藻ウシケノリ目の属の再編について. *藻類* 60, 145–148.
- 菊地則雄 (2013) 紅藻ウシケノリ目の属の再編について. *海苔と海藻* (81), 13–21.
- 菊地則雄・玉城泉也・藤吉栄次・小林正裕 (2013) 紅藻エリモアマノリの分類学的再検討. *藻類*, 61, 51.
- Kurogi, M. (1972) Systematics of *Porphyra* in Japan. Contributions to the Systematics of the Benthic Marine Algae of the North Pacific. Japanese Society of Phycology, Kobe, pp. 167–191.
- Kjellman, F. R. (1883) Norra Ishafvets algflora. Vega-Expeditionens Vetenskapliga Iakttagelser 3, 1–431.
- Shimada, S., M. Hiraoka, S. Nabata, M. Iima and M. Masuda (2003) Molecular phylogenetic analyses of the Japanese *Ulva* and *Enteromorpha* (Ulvales, Ulvophyceae), with special reference to the free-floating *Ulva*. *Phycol. Res.* 51, 99–108.
- Sutherland, J. E., S. C. Lindstrom, W. A. Nelson, J. Brodie, M. D. J. Lynch, M. S. Hwang, H.-G. Choi, M. Miyata, N. Kikuchi, M. C. Oliveira, T. Farr, C. Neefus, A. Mols-Mortensen, D. Milstein and K. M. Müller (2011) A new look at an ancient order: generic revision of the Bangiales (Rhodophyta). *J. Phycol.* 47, 1131–1151.
- Stiller, J. W. and J. R. Waaland (1993) Molecular analysis reveals cryptic diversity in *Porphyra* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 29, 506–517.
- Stiller, J. W. and J. R. Waaland (1996) *Porphyra rediviva* sp. nov. (Rhodophyta) a new species from northeast Pacific salt marshes. *J. Phycol.* 32, 323–332.
- 玉城泉也・菊地則雄・藤吉栄次・小林正裕 (2012) ツクシアマノリ *Porphyra yamadae* の *Pyropia* 属への変更. 平成 24 年度日本水産学会秋季大会講演要旨集. 102.
- De Toni, G. B. (1890) Frammenti algologici. *Nuova Notarisia* 1, 141–144.
- Niwa, K. and Y. Aruga (2003) Rapid DNA extraction from conchocelis and ITS-1 rDNA sequences of seven strains of cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 15, 29–35.
- Niwa, K. and Y. Aruga (2006) Identification of currently cultivated *Porphyra* species by PCR-RFLP analysis. *Fish. Sci.* 72, 143–148.
- Niwa, K., S. Iida, A. Kato, H. Kawai, N. Kikuchi, A. Kobiyama and Y. Aruga (2009) Genetic diversity and introgression in two cultivated species (*Porphyra yezoensis* and *Porphyra tenera*) and closely related wild species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 45, 493–502.
- Niwa, K., N. Kikuchi, M. Iwabuchi and Y. Aruga (2004) Morphological and AFLP variation of *Porphyra yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). *Phycol. Res.* 52, 180–190.
- Niwa, K., N. Kikuchi, M. S. Hwang, H.-G. Choi and Y. Aruga (2014) Cryptic species in the *Pyropia yezoensis* complex (Bangiales, Rhodophyta): Sympatric occurrence of two cryptic

- species even on same rocks. *Phycol. Res.*, 62, 36–43.
- Nelson W. A., T. J. Farr and J. E. Broom (2005) *Dione* and *Minerva*, two new genera from New Zealand circumscribed for basal taxa in the Bangiales (Rhodophyta). *Phycologia* 44, 139–145.
- Nelson, W. A. and J. E. S. Broom (2005) Contributions of molecular biology to understanding systematics and phylogeny in the order Bangiales. *Nat. Hist. Res. Spec. Issue* 8, 1–12.
- Nelson, W. A., J. E. Broom and T. J. Farr (2003) *Pyrophyllon* and *Chlidophyllon* (Erythropeltidales, Rhodophyta), two new genera for obligate epiphytic species previously placed in *Porphyra*, and a discussion of the orders Erythropeltidales and Bangiales. *Phycologia* 42, 308–315.
- Hayden, H. S., J. Blomster, C. A. Maggs, P. C. Silva, M. J. Stamhope and Waaland, J. R. (2003) Linnaeus was right all along: *Ulva* and *Enteromorpha* are not distinct genera. *Eur. J. Phycol.* 38, 277–294.
- Broom, J. E. S., Farr, T. J. and Nelson, W. A. (2004) Phylogeny of the *Bangia* flora of New Zealand suggests a southern origin for *Porphyra* and *Bangia* (Bangiales, Rhodophyta). *Mol. Phylogenet. Evol.* 31, 1197–1207.
- Broom, J. E., W. A. Nelson, C. Yarish, W. A. Jones, R. Aguilar Rosas and L. E. Aguilar Rosas (2002) A reassessment of the taxonomic status of *Porphyra suborbiculata*, *Porphyra carolinensis* and *Porphyra lilliputiana* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *Eur. J. Phycol.* 37, 227–235.
- Müller, K. M., J. J. Cannone and R. G. Sheath (2005) A molecular phylogenetic analysis of the Bangiales (Rhodophyta) and description of a new genus and species, *Pseudobangia kaycoleia*. *Phycologia* 42, 209–219.
- 吉田忠生・吉永一男 (2010) 日本産海藻目録 (2010年改訂版). 藻類 58, 69–122.
- 四ツ倉典滋 (2007) 日本産寒海性コンブ科植物の学名について. 藻類 55, 167–172.
- Lyngbye, H. C. (1819) *Tentamen Hydrophytologiae Danicae Continens Omnia Hydrophyta Cryptogama Daniae, Holsatiae, Faeroae, Islandiae, Groenlandiae Hucusque Cognita, Systematice Disposita, Descripta et Iconibus Illustrata, Adjectis Simul Speciebus Norvegicis. Typis Schultzianis, in commissis Librariae Gyldendaliae, Hafniae [Copenhagen].*
- Lindstrom, S. (2008) Cryptic diversity, biogeography and genetic variation in northeast Pacific species of *Porphyra sensu lato* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 20, 951–962.
- Lane, C. E., C. Mayes, L. D. Druehl and G. W. Saunders (2006) A multi-gene molecular investigation of the kelp (Laminariales, Phaeophyceae) supports substantial taxonomic re-organization. *J. Phycol.* 42, 493–512.



## お世話になった皆さま

### 水産庁事業関係

委員：東京水産大学名誉教授 有賀祐勝氏，水産大学校名誉教授 鬼頭 鈞氏，  
山形大学理学部教授（当時） 原 慶明氏，三重大学名誉教授 天野秀臣氏，  
三重大学生物資源学部教授 前川行幸氏，  
全国海苔貝類漁業協同組合連合会専務理事（当時） 石渡誠之氏，  
農林水産消費安全技術センター部長（当時） 森 章氏，  
農林水産消費安全技術センター部長（当時） 植木 隆氏，  
近畿中国四国農業研究センターチーム長（当時） 矢野 博氏  
水産庁担当者 班長（当時）：村上邦宏氏，宇野信也氏，水益 彰氏  
係長・係員（当時）：長谷川 藍氏，伊藤友紀氏，中井 睦氏，松井恵子氏  
協力 長崎大学名誉教授 藤田雄二氏，長崎大学名誉教授 右田清治氏，  
たから製網株式会社 安部 昇氏，第一製網株式会社 安部敏男氏，  
農業・食品産業技術総合研究機構果樹研究所 藤井 浩氏，  
水産大学校教授 村瀬 昇氏，海苔増殖振興会（当時） 西本 寛氏  
株の提供等 一般財団法人海苔増殖振興会，たから製網株式会社，  
宮城県水産技術総合センター，佐賀県有明海漁業協同組合，熊本県漁業協同組合連合会  
水産総合研究センター内関係者 西海区水産研究所（当時）：皆川 恵氏，小谷祐一氏  
中央水産研究所（当時）：國本正彦氏 本部（当時）：中山一郎氏，佐野元彦氏，  
奥澤公一氏，内田和男氏，森 広一郎氏，大村裕治氏，小林敬典氏

### ノリ養殖品種の特性に関するシンポジウムの開催（平成24年9月6日）

一般財団法人海苔増殖振興会（共催団体）会長 松本忠明氏，  
専務理事 篠塚朝人氏，理事 石井その子氏を始めとする同会役員の皆様

### 陸上養殖試験関係

元福岡県水産海洋技術センター所長 切田正憲氏，  
千葉県水産総合研究センター東京湾漁業研究所 島田裕至氏，  
岡山県農林水産総合センター水産研究所 草加耕司氏，  
佐賀県有明水産振興センター（当時） 藤武史行氏

### 製本化関係

水産庁 班長：三輪剛志氏、係長：松井恵子氏  
水産総合研究センター本部 研究主幹 中島員洋氏，同 コーディネーター 栗田 潤氏，  
同 コーディネーター 小林敬典氏

この他にも、室内培養試験、野外養殖試験、陸上養殖試験等および製本関係で多くの方のご協力をいただきました。お世話になった皆様に深く感謝いたします。

平成26年3月

編集者一同

Characteristics of Nori Cultivars

Edited by Eiji Fujiyoshi, Motoya Tamaki, Masahiro Kobayashi and Masato Aritaki

Published by Seikai National Fisheries Research Institute,  
Fisheries Research Agency, Nagasaki, Japan  
All rights reserved.

ISBN:978-4-9980694-2-3

アマノリ養殖品種の特性

平成26年(2014年)3月発行

編集：藤吉栄次，玉城泉也，小林正裕，有瀧真人  
発行：独立行政法人 水産総合研究センター 西海区水産研究所  
〒851-2213 長崎市多以良町1551-8

ISBN : 978-4-9980694-2-3

(非売品) 無断複写・転載を禁ず.