

養殖ノリから組織培養を利用して選抜した高生長株の栽培特性について

杉野博之・檜東裕子・清水泰子

Cultivation Characteristics of Selected High Growth Porphyra spp. Using Tissue Cultures

Hiroyuki SUGINO, Yuko KASHIRO, and Yasuko SHIMIZU

キーワード：ノリ，高生長，選抜育種，遺伝子判定

養殖ノリは移植や選抜育種が盛んに行われてきた結果，ノリ養殖を行っている各地の養殖株を含めると，現存の株は数え切れない程に多くなっている。ノリの養殖業者が使用株に対する要望の強い形質は，第一に多収性であり，次いで高色調性や耐病性，高旨味性などの品質に関する項目が続く。従って，ノリの選抜育種を行う上で高成長は絶対条件となる特性で，2002年から'04年までの3カ年で高生長株の作出を行う目的で選抜試験を行った。選抜試験は，まず室内培養系で試験株の選抜を行い，次いで，野外栽培試験により作出した試験株（以後，選抜株とする）と選抜前の元株との特性を比較した。その概要を報告する。

報告に先立ち，野外栽培の試験漁場の借り上げを快諾していただいた朝日漁業協同組合伊加正臣組合長並びに試験網の栽培管理に多大な尽力をいただいた同組合員豊田昭氏に感謝の意を表します。また，選抜株と元株の遺伝子判別を快く引き受けてくださった兵庫県立農林水産技術総合センター主任研究員の丹羽恭介氏に感謝の意を表します。

材料と方法

試験株の作出

1) 第1回目の選抜 試験に供試した株は，通称「エビス9号」（熊本県エビスのり研究所から岡山県水産振興協会が'00年2月にフリー糸状体で購入したもの，以後，元株と略す）を用い，以後常法に従いホタテ貝殻に移植して垂下培養していたものである。

試験株の採苗は，'01年10月10日から12日にかけて，ノリ網各15枚ずつに屋外水車式により行った。殻胞子は網糸1cm当たりに30個程度着生させた。採苗したノリ網は，流水水槽内で約5時間浸漬した後に水を切り，

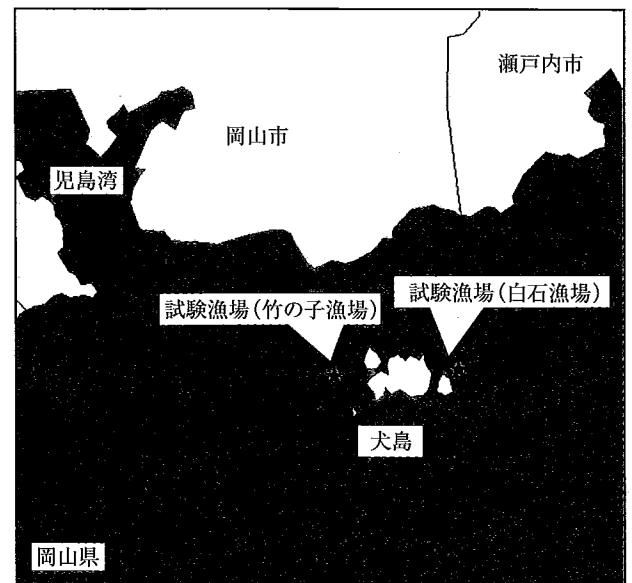


図1 育苗及び養成漁場位置

冷凍袋に5枚ずつ入れ， -20°C の冷凍庫で保存した。

育苗漁場および養成漁場を図1に示した。10月14日から犬島周辺漁場の通称「竹の子」漁場に人工干出装置を設置し，冷凍庫で保存していたノリ網を出庫し育苗を開始した。育苗期間中の干出は，原則として毎朝行った。本張りは葉長が約3cmに生長したノリ網5枚を11月9日に通称「白石」漁場のセットに張り込み，12月7日の秋芽網の第3回目の摘採時に試験網の中から著しく生長の良かった葉体を選抜した。選抜した葉体は，雑藻類の混入を極力防止するため酸処理及び冷凍処理を行った。その後，常法によりフリー糸状体にして保存した。

2) 第2回目の選抜 第1回目で選抜した葉体から作出したフリー糸状体を拡大培養して，ホタテ貝殻に移植した。移植した貝殻糸状体の培養は川村らの条件を参考に促成培養を行い，恒温室内で水温と照度及び日長を

調節して糸状体の伸長、成熟及び殻胞子の形成、放出を促した。採苗は殻胞子の放出処理をした貝殻糸状体を用い、殻胞子が放出された培養水ごとピーカーに採り、その中に撚糸を5 cm程度に切った試験糸を混ぜ合わせ、合計10本ずつ採苗した。採苗した試験糸は、20℃程度に調温した濾過海水中に漬け込み、恒温室内で約5時間程度静置した。その後、着生胞子が直立発芽体となったことを確認して水を切り、ビニール袋に入れ密封した後に-20℃で冷凍保存した。

数日間冷凍保存しておいた試験糸は、1 lの柄付き丸フラスコを用い、恒温室内で葉体培養に供した。照度は培養棚の直上で約5,000luxとなるように上面から蛍光灯で照明した。また、培養水には人工海水のASP-6を用い、換水は原則として1週間毎に行った。また、通気は撚糸がゆっくりとフラスコ内を回る程度に行った。葉体培養を開始後、試験糸に着生した葉体中で生長が悪いものを間引き、生長の良いものを継続して培養した。生長が良好であった葉体を上位から順次、組織培養用に酸処理を行い冷凍保存した。保存した葉体は組織培養を行うため、葉体上部のおよそ5 mm角の組織を切り取り、滅菌海水を入れた6穴プレート内に収容して、人工気象器内で接合胞子の誘導条件下で培養した。誘導の条件は、培養水温を15~20℃、光周期を14L:10D、照度を約4,000luxに調整し組織培養した。誘導して得られた接合胞子は、プレート内で肉眼視できる状態まで継続培養し、数mmまで糸状体化させたものを採取し保存した。

3) 第3回目の選抜 第3回目の選抜は、2度選抜を繰り返した株を用い、第2回目の選抜に準じて室内培養系で培養した葉体から選抜した。選抜した葉体は、再び組織培養を通じてフリー糸状体にして保存した。

選抜株と元株の栽培特性調査 選抜株と元株の栽培特性を比較するため、それぞれのフリー糸状体を拡大培養してホタテ貝殻に移植し、常法で垂下培養した。'04年10月8日から9日にかけて培養していた貝殻糸状体を用いノリ網各15枚に野外水車式で採苗した。採苗したノリ網は海水中に数時間静置後、軽く水切りし、ノリ網5枚ずつを袋に入れ、-20℃の冷凍庫内で保存した。試験漁場を図1に示した。'04年10月13日から犬島周辺ノリ漁場の通称「白石」漁場に人工干出装置を設置し、冷凍庫内に保存しておいたノリ網を出庫し育苗を開始した。育苗期間中は原則として毎朝干出した。本張りは葉長が約2 cm程度に生長した、'04年11月9日に各株5枚ずつを秋芽網期の特性調査用として元株は通称「竹の子」漁場に、選抜株は「白石」漁場に分けて張り込んだ。残

りの網は冷凍網期の調査用に、常法により冷凍にして保存した。冷凍網は'04年12月20日から各5枚ずつを出庫し、両株ともに通称「白石」漁場に張り込み、特性調査用に供した。

特性調査の内容は、育苗期にあつては網糸ごと、養成期(秋芽網期及び冷凍網期)にあつては網地の一定面積当たりに着生した葉体を適宜サンプリングし諸性質(栄養繁殖性、生長性、葉形、葉色、ねん性及び収量性)の測定に供した。なお、今回実施した栽培特性の調査方法については、(社)日本水産資源保護協会出版のあさくさのり、すさびのりの栽培試験法りに準じ実施した。また、選抜株と選抜前の元株の遺伝子判別を行うため、それぞれのフリー糸状体から核DNAおよび葉緑体DNAを用いたPCR-RFLP分析を行った。

結果と考察

選抜株の作出 第1回目の選抜は、'01年12月7日に野外栽培特性試験中の秋芽網期第3回目の摘採時の葉体から、生長の良い葉体を選抜した。採取葉体の上位30葉体の平均葉長は 18.7 ± 10.7 cm(平均値±標準偏差)であったが、この中で葉長が最も優れた66.0cmの葉体を選抜した(図2)。選抜した葉体の上部の組織を用い、人工気象器内で接合胞子を誘導した。この結果、およそ20日後には接合胞子を確認し、その後継続培養してフリー糸状体にして保存した。

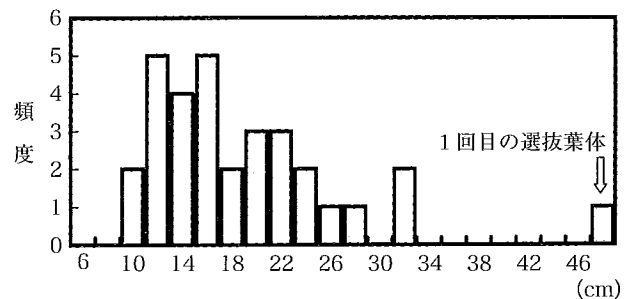


図2 採取した上位30葉体の葉長組成 (選抜1回目)

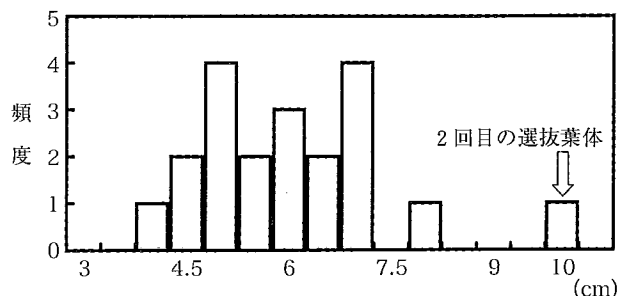


図3 室内培養した上位20葉体の葉長組成 (選抜2回目)

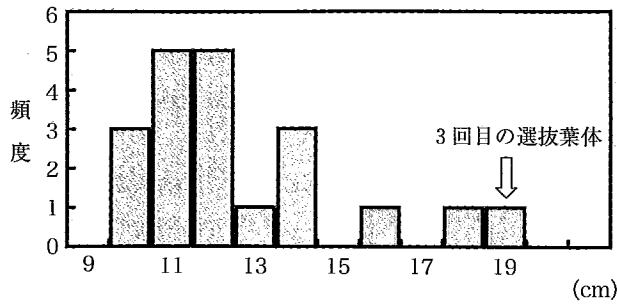


図4 室内培養した上位20葉体の葉長組成 (選抜3回目)

第2回目は、'02年12月4日から26日の22日間、恒温室内で葉体培養した後、上位20葉体から選抜した。培養した上位20葉体の平均葉長は 5.8 ± 1.3 cmであったが、この中から一番生長が優れた葉長9.6cmの葉体を選抜した(図3)。選抜した葉体は、第1回目の選抜と同様に組織培養してフリー系状態として保存した。

第3回目は、'03年12月4日から'04年1月7日の34日間、第2回目の選抜と同様に恒温室内で葉体培養を行い、得られた上位20葉体(平均葉長 12.2 ± 2.6 cm)から生長が最も優れた葉長18.8cmの葉体を選抜した(図4)。この選抜した葉体は、第2回目の選抜葉体と同様に組織培養を通じフリー系状態を得た。この選抜を合計3回繰り返し得られた株を「岡山選抜3号」と命名し保存した。

栽培特性調査 上記の選抜株と元株を比較するための野外栽培試験を実施し、以下の栽培特性を調査した。

1) **栄養繁殖性** 試験に供した2株の栄養繁殖性の観察結果を表1に示した。単胞子の放出開始時期や放出の多寡は、品種特有の性質を判断する一材料となるもので、元株は単胞子の放出開始が日齢16~19日、葉長で2.4~5.0mmから確認できたのに対し、選抜株は日齢14~16日、葉長で1.2~2.3mmと少し早くから確認できた。両株共に比較的遅い時期から単胞子の放出が確認され、アサクサノリ *P.tenera* の特性よりもナラウスサビノリ *P.yezoensis* の特性により近かった。また、単胞子の放出

表1 2株の栄養繁殖性

形質		元株	選抜株
単胞子放出	開始期		
	葉長(mm)	2.4~5.0	1.2~2.3
	細胞列数	16~20	12~20
最盛期	日齢	16~19	14~16
	葉体先端部の形	僅かに凸凹	同左
終了期	葉長(mm)	—	—
	細胞列数	—	—
	日齢	—	—
単胞子放出の未確認割合		約80%	約60%

盛期の葉体先端部は両株とも僅かに凹凸を示す程度で、胞子の放出量は少ないものと思われ、一般に単胞子の放出量が少ない株は、幼芽期の生長が早い特性を有している³⁾とされている。一方、単胞子の放出終了期は両株共に育苗期間中には確認できず、遅くまで放出する傾向にあった。この点でも、葉長が数cmになるまで単胞子の放出が続くとされている⁴⁾スサビノリに両株ともより近い性質を持っているものと思われた。

2) **生長性** 育苗期の幼葉は無作為に20葉体を、養成期の成葉は長いものから11~30番目の20葉体の葉長を測定した。育苗期間中の2株の平均葉長の推移を図5に示した。両種ともに、日齢16日(育苗開始日を日齢0日とし、張り込み後の日齢はH-nとする)で葉長は2~3mmに生長し、初期の生長が良いとされているナラウスサビノリ²⁾の特性に匹敵した。また、一般に育苗を終了する、葉長が約3cmに生長するのに要した期間は、両種共におよそ26日間であり、両株に差は認められなかった。

本張り後の養成期における摘採回毎の平均葉長を図6に示した。秋芽網の本張り時には葉長約3cmのものが、養成12日後の第1回目の摘採(以後、秋芽網のn回目の摘採を秋芽n番とする)時には元株、選抜株の平均葉長はそれぞれ27.4cmと35.5cmに生長し選抜株の生長が

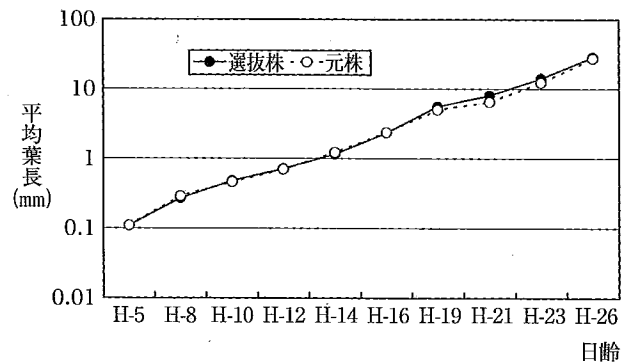


図5 育苗期間中の平均葉長の推移

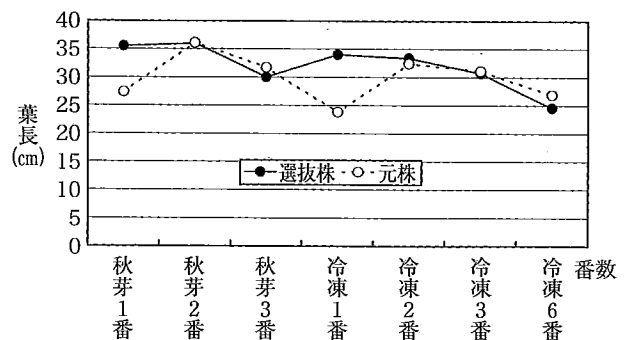


図6 本張り後の摘採回次毎の平均葉長の推移

優れた。しかし、さらに6日後の秋芽2番では元株と選抜株の平均葉長はそれぞれ36.1cmと36.0cmとなりほぼ同様な生長を示した。この傾向は、12月6日の秋芽3番まで続いた。

冷凍網は12月20日に出庫し、養成8日後の第1回目の摘採(以後、冷凍網のn回目の摘採を冷凍n番とする)時には元株と選抜株の平均葉長は、それぞれ23.8cmと34.0cmに生長し、冷凍網期においても冷凍1番では秋芽網期と同様に選抜株の生長が元株と比べ優れた結果となった。しかし、冷凍2番以降は秋芽網期と同様に、選抜株も元株と同様な生長を示した。これらのことから、選抜株は元株と比べ初期の生長に優れた株であることが明らかとなった。

3)葉形 発芽体が初めて縦分裂を始める時の細胞数、いわゆる“n”は、元株が22~30(平均26.8)、選抜株が24~38(平均29.6)であった。これら2株の“n”は、過去の調査の値^{3,4)}などと比べ、両株共に高い値であった。

育苗期間中の葉長葉幅比の推移を図7に、また時期別葉長葉幅比と葉形を表2に示した。元株、選抜株共に幼芽期から葉長葉幅比が10以上あり、さらに、葉長が数cmを越えた成葉期になると28以上と非常に高い値となった。育苗期では選抜株が元株より高い傾向にあったが、養成期ではほぼ同様な傾向となった。これらの値が高いのは非常に縦方向への生長が顕著な株で、多収性品種の条件を十分に満たしている⁴⁾株といえる。

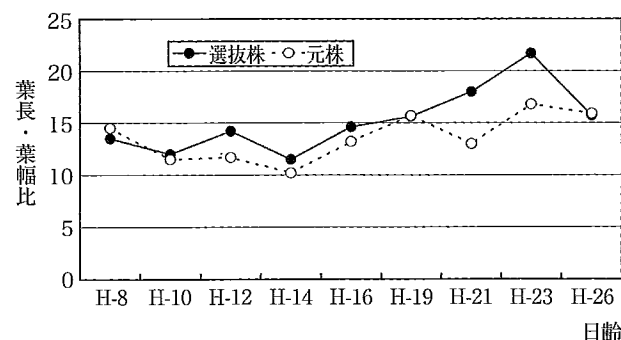


図7 育苗期における葉長・葉幅比の推移

表2 供試した2株の時期別の葉長葉幅比と葉形

時期	葉長(cm)	元株	選抜株
幼芽	0.1~0.2	10.7±2.2	12.1±2.1
幼葉	2.5~3.0	15.9±3.8	15.8±4.0
成葉	20~30	29.9±5.2	28.1±7.9
葉形		線形57% 線状倒披針形43%	線形73% 線状倒披針形27%
葉体基部		鋭角	鋭角

注) 葉長葉幅比は平均値±標準偏差

表3 供試した2株の時期別の葉色

項目	元株	選抜株
秋芽網	7.5R 2.0/2.0	5R 2.0/1.5
冷凍網	7.5YR 2.0/1.0	7.5YR 2.0/2.0

注) 調査は秋芽網、冷凍網ともに第2回目の摘採時とし、標準色票によるマンセル値で表した。

次に、幼芽から成葉に至るまでの各時期の葉長葉幅比と葉形では、成葉期の葉形は、元株ではほぼ約6割が線形で線状倒披針形が約4割を占めた。一方、選抜株では約7割が線状を示し、残り3割が線状倒披針形を示し、選抜株の方が全体的に細葉の傾向であった。また、葉体基部の形状は、両種共に鋭角の楔形を示したものが多かった。

4)葉色 供試した2株の時期別の葉色を表3に示した。幼葉期から秋芽網期の間は、大きな差は認め難く、秋芽網の第2回目摘採時では元株が7.5R 2.0/2.0(標準色票によるマンセル値)、選抜株が5R 2.0/1.5で、選抜株の「黒み」が若干優っていた。また、冷凍網期の第2回目摘採時では元株が7.5YR 2.0/1.0、選抜株が7.5YR 2.0/2.0で、元株の「黒み」がやや優っていた。

5)ねん性 秋芽網期の網揚げ前の12月6日の調査(本張り後54日目)で、生殖細胞は元株と選抜株ともに観察されなかった。冷凍網期では、1月14日の調査(冷凍入庫した日数は除き本張り後52日目)では、元株で全体の20%の葉体が生殖細胞が形成された成熟葉体であったのに対し、選抜株では秋芽網期同様に成熟葉体は観察されなかった。その後、選抜株は2月12日の調査では全体の約40%に成熟葉体が観察された。しかし、両株とも生殖細胞が葉体全体に占める形成面積はごく僅かであった。この結果、両株ではねん性が異なり、特に、選抜株はねん性が低いと考えられた。

6)収量性 秋芽網期と冷凍網期を通じて、ノリ網一定面積当たりの葉体の湿重量の推移を図8に示した。秋

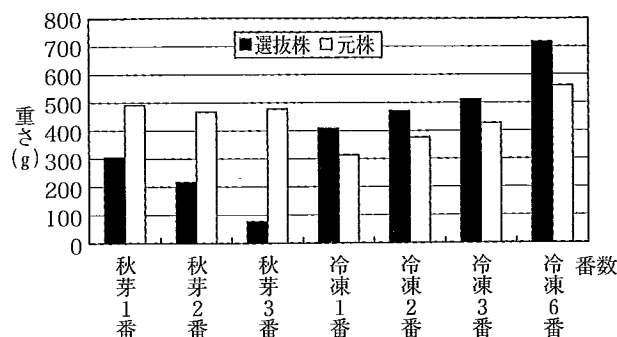


図8 一定面積当たりの収穫量の比較

芽網期では、元株と選抜株のノリ網を同一の漁場に張り込めなかったため両株の収穫量を比較することは困難であった。また、選抜株から採苗した網を張り込んだ漁場では、急速にあかぐされ病が蔓延したことと、試験に用いた選抜株から採苗した網の芽付きが元株のものに比べ薄かったことも影響して収量が減少したものと思われる。冷凍網期では摘採回次ごとの収量は、元株からのものと比べ選抜株の方が約1から2割程度多く収穫できた。この結果は、元株より選抜株の方が単胞子の放出による2次芽の着生が多かったことによるものと考えられた。

7) 遺伝子判別 元株と選抜株のフリー糸状体の遺伝子判別をした結果、両株間に遺伝的な差は認められなかった。また、両株ともに標準品種であるナラワササビノリに属する株であると判定された。

摘 要

1. エビス9号を元に生長性を指標に合計3回の選抜を繰り返した選抜株を得た。培養した葉体からは組織培養を通じて糸状体を得て保存した。その選抜株と選抜前の元株の2株を用いて野外栽培試験を行い、それぞれの諸形質を調査した。
2. 栄養繁殖性において選抜株は元株に比べ単胞子の放出開始が若干早く確認されたが、その放出期は比較的遅くナラワササビノリの特性に近く、放出量が少ないことは、育苗期の初期生長が良い特性を有していた。
3. 生長性は、育苗期では元株も選抜株もほぼ差は認められなかった。養成期では、秋芽網期と冷凍網期を通じて、選抜株の方が初期の生長に優れた株であることが明らかとなった。

4. 葉形は両株とも葉長葉幅比で高い値を示し、縦方向への生長が顕著な株で、多収性の条件を満たしていた。選抜株は元株に比べ、全体に占める線形の割合が多くなった。葉体基部は、両株ともに鋭角の楔形を示した。

5. 葉色は秋芽網期では選抜株が、冷凍網期では元株が若干「黒み」に優っていた。

6. ねん性は秋芽網期では両株とも成熟葉体は観察されなかった。冷凍網期では元株の成熟が選抜株に比べ早い時期に観察された。選抜株も漁期後半には生殖細胞が僅かに観察されたが、その生殖細胞の形成面積はごく僅かであり、ねん性が低いと考えられた。

7. 収量性は秋芽網期では試験網が同一漁場になく比較できなかったが、冷凍網期では選抜株が元株と比べて摘採回時ごとに約1～2割程度多く収穫できた。

文 献

- 1) 川村嘉広, 鷺尾真佐人, 北嶋博卿, 1996: 室内傾斜水温条件におけるアマノリの生長, 佐賀県有明水産振興センター研究報告, 29-31.
- 2) のり品種特性調査研究協議会, 1980: あさくさのり, すさびのりの栽培試験法, 昭和55年度種苗特性分類調査報告書, 36-53.
- 3) 片山勝介, 1981: 二, 三の養殖ノリ品種の特性について, 岡山水試報, 131-135.
- 4) 片山勝介, 1980: 有明海産養殖ノリ3種の品種特性について, 岡山水試報, 188-192.