

# 平成 9 年度スジアオノリ優良品種作出技術開発

## 室内試験結果

萩平 将・團 明紀

人工採苗技術を利用して、スジアオノリの品種選抜技術および種の保存技術を開発し、養殖業者に普及することを目的とする。なお、本試験はフロンティアテクノ 21 推進事業によった。

### 1 選抜技術の開発 - 1

吉野川から単離培養した一本のスジアオノリから孢子を採取して培養したスジアオノリ群の中で、葉長の異なる個体が出現した。この差は遺伝的な変異差によるものと考えられたため、同一条件下で葉長の長いグループと短いグループの葉長推移を測定し、1 日の伸長率（倍/日、以下「日間伸長率」とする。）を比較した。

#### (1) 材料および方法

母藻細断法により採取した孢子をパスツールピペットで採取し、PES 培地を入れたシャーレーに散布した。数 mm になるまで静置培養し、長い個体（L 区）及び短い個体（S 区）の各 5 本を 100ml 三角フラスコに入れ、照度 3000Lux、明暗周期 12D / 12L、水温 20、30 の条件下で通気培養した。

葉長は 3 日間隔で測定し 1 日の伸長率を比較した。なお、培地は葉長測定後交換し、通気培養を開始した日を 0 日とした。

#### (2) 結果

各フラスコに入れたスジアオノリ 5 本の平均葉長の推移を図 1, 2 に、各フラスコの日間伸長率を表 1 示す。

各試験区の葉長推移はほぼ平行になり、水温 20 での L 区と S 区の日間伸長率はそれぞれ 1.38 ~ 1.40, 1.37 ~ 1.41 倍/日（以下単位省略）であり、両区の間には明らかな差はなかった。

#### (3) 考察

同時に孢子を採集し、培養したスジアオノリ群の中で出現する葉長の長短は、遺伝的な変異差によるものではなく、孢子の遊泳時間、発芽の早遅等に起因するものと考えられる。スジアオノリの生活史は現在のところ単為発生のサイクルしか確認されていない。各試験区の日間伸長率差が小さかったのは、吉野川産スジアオノリの生活史が単為発生だけのサイクルである可能性を示唆し、選抜技術を開発していくためには単為発生以外の生活史の有無を確認する必要があると考

えられる。

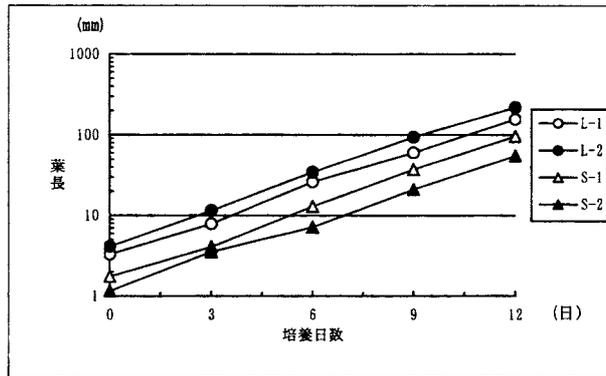


図 1 水温 20 における A 株の葉長推移

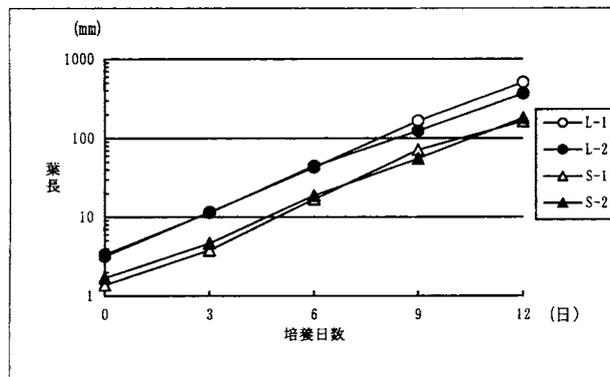


図 2 水温 30 における A 株の葉長推移

表 1 A 株の各試験区における日間伸長率

水温	試験区	日間伸長率 (倍/日)
20°C	L-1	1.38
	L-2	1.40
	S-1	1.41
	S-2	1.37
30°C	L-1	1.53
	L-2	1.48
	S-1	1.52
	S-2	1.48

## 2 選抜技術の開発 - 2

吉野川から単離培養したスジアオノリの株間での日間伸長率を比較するため、他の吉野川産スジアオノリ株を用いて選抜技術開発 - 1 と同様の方法で葉長の推移を調べた。

### (1) 材料および方法

各株の伸長率を比較するため、吉野川から単離培養した 4 種を用いて、胞子を採取し静置培養したものの中から 5 本 100mℓ 三角フラスコに入れ、照度 3000Lux、明暗周期 12D / 12L、水温 20

の条件下で通気培養した。また、各個体間の伸長率を比較するため三角フラスコに1本ずつ入れた試験区を各株5本設定した。

葉長は3~5日間隔で測定を行い伸長率を比較した。なお、試験中はPES培地で培養し、葉長測定後に培地を交換した。また、通気培養を開始した日を0日とした。

## (2) 結果

各株における平均葉長の推移及び各株の日間伸長率を図3に、個体別の平均葉長の推移を図4に、個体別の日間伸長率を表2に示す。各株における日間伸長率の差は最大で0.07だった。また、個体別の日間伸長率の差はB, C, D, E株それぞれ最大で0.07, 0.05, 0.09, 0.04だった。

## (3) 考察

株で比較するとB~E株の日間伸長率は1.26~1.29で大きな差がなかったが、同条件下で培養したA株の日間伸長率は1.37~1.41であり、明らかにA株が他の株に比べて伸長率が高い株といえる。B~Eの4株は葉体の先端部に細胞の抜けた葉体があり、成熟して胞子を放出したものと見られる。A株と他の4株との伸長率の差は成熟の有無によるものと考えられる。また、B~E株それぞれの個体別日間伸長率の差は、株間の伸長率差と同じ程度であったが、これは各個体が持つ遺伝的変異による差でなく、成熟による葉体消失量の差による可能性が高い。吉野川産スジアオノリを伸長率で比較するためには成熟条件を検討する必要がある。

吉野川産スジアオノリが単為発生だけの生活サイクルである可能性が高いことを考えると、優良品種を作出するためには、多数の天然株を採集し、その中から優良株を選別していく方法が有効であると考えられる。

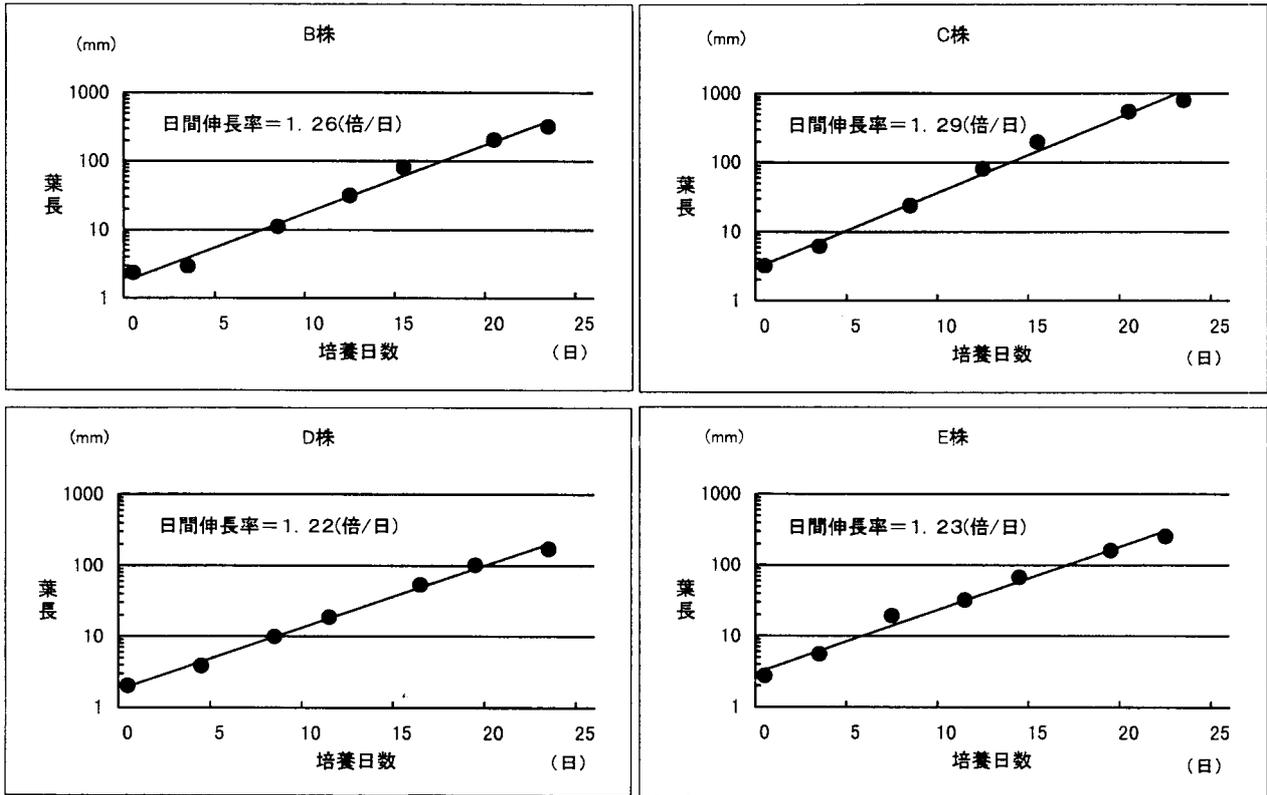


図3 各株の葉長推移

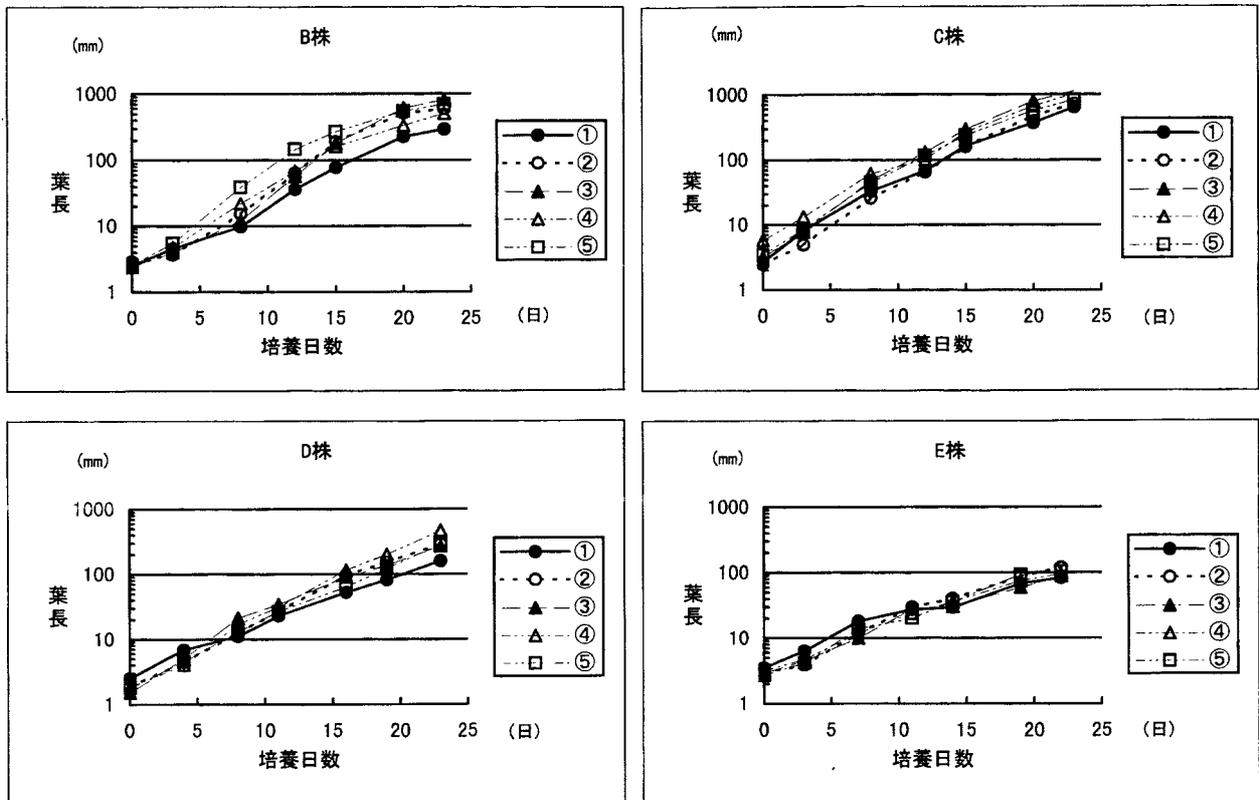


図4 各株1個体の葉長推移

表 2 各株の個体別日間伸長率（倍／日）

個体No.	B株	C株	D株	E株
①	1.25	1.26	1.19	1.15
②	1.29	1.29	1.25	1.19
③	1.32	1.30	1.25	1.17
④	1.27	1.25	1.28	1.17
⑤	1.29	1.27	1.24	1.19
最大	1.32	1.30	1.28	1.19
最小	1.25	1.25	1.19	1.15
平均	1.28	1.28	1.24	1.18

表 3 酵素処理液の組成

組成	酵素前処理液	酵素液	酵素洗浄液
デキストラン硫酸カリ	0.5%	0.5%	—
マンニトール	0.6M	0.6M	0.6M
EGTA	10mM	10mM	—
HEPES	—	—	20mM
MES	20mM	20mM	—
セルラーゼオノズカRS	—	1.5%	—
AAP	—	3%	—
pH	6.5	6.0	8.0

表 4 プロトライト作出結果

株	葉長 (cm)	原藻 0.5 g の作出量 (個)
E株	12	$6.38 \times 10^4$
B株	30	$2.24 \times 10^4$
C株	100	$0.20 \times 10^4$
四万十川産	16	$4.02 \times 10^4$

### 3 保存技術の開発

プロトプラストによる保存法を検討するためには、プロトプラストを安定して作出する必要がある。このため、愛媛県の事例を参考にして AAP とセルラーゼオノズカ RS を用いた酵素液でプロトプラストの作出を試みた。

#### (1) 材料および方法

15～100cm 程度の培養藻体を用いて図 5 の方法でプロトプラストを作出した。なお、酵素液等の組成を表 4 に示した。

#### (2) 結果

4 株の培養藻体でプロトプラストを作出した結果、藻体 0.5g から  $0.20 \times 10^4 \sim 6.38 \times 10^4$  個のプロトプラストが作出された。なお、作出量は葉長が短いものが多く作出された。

#### (3) 考察

プロトプラスト作出に使用するスジアオノリの培養状態によってプロトプラストの作出量が変わることが予想される。このため、プロトプラストを安定して作出するためには酵素液組成を一定にしてプロトプラスト作出に適した藻体状態を検討する必要がある。

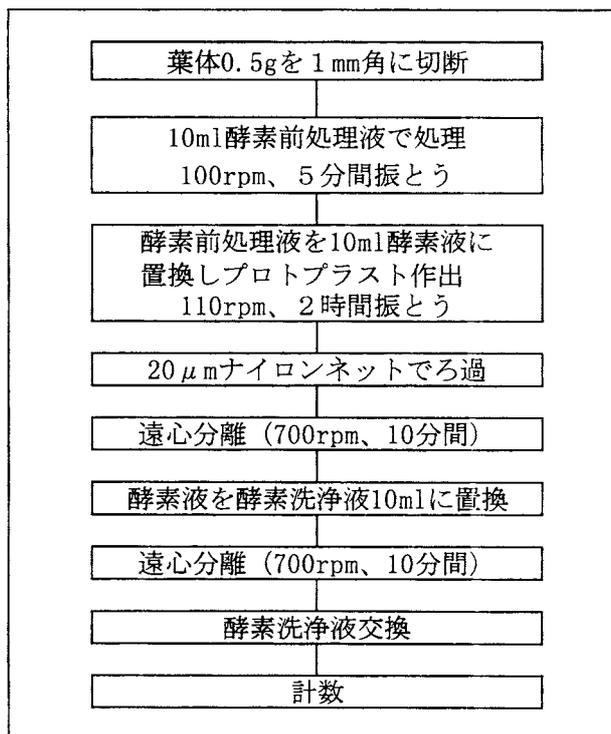


図5 プロトプラスト作出方法