

水産業による水質浄化機能の向上技術開発事業

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

坂口研一・岩出将英

目的

三重県の黒のり養殖は伊勢湾に面した漁場で広く営まれ、生産量約3億枚、生産額約25億円を水揚げする伊勢湾における冬季の基幹漁業である。近年、伊勢湾では、地球温暖化に伴う水温上昇によって通常10月から開始される黒のりの育苗が遅れ、ノリ養殖漁期が短くなり、生産量が減少しつつある。また、育苗期においては、高水温や低比重、病害、悪天候などにより芽落ちが発生している。現状では、大きく芽落ちしたノリ網は使用不能となり、その後の養殖に深刻な被害が生じる。これらの被害を軽減するため、高水温下でも生育する品種を開発するとともに、芽落ちしたノリ網の再生技術を開発する。

方法

1. 高水温耐性候補株の室内試験

長さ5cmのクレモナ糸に採苗したU-51およびMe-t11を1Lの枝付き培養フラスコに入れ培養した。培養海水は栄養強化のため、1/2SWM 改変培地を10ml加え、照度5,000lx、明期11時間、暗期13時間とした。水温は25℃から3日半おきに0.5℃ずつ低下させ、換水は1週間に1度行った。高水温耐性下の重要形質である生長や形態異常について比較を行った。それぞれの形質についてt検定を行った。

2. 高水温耐性候補株の野外養殖試験

U-51およびMe-t11の陸上採苗は9月28、29日にかけて実施し、冷凍保存後、9月30日に水温24.0℃で育苗を開始した。その後、1週間に1回の頻度でサンプリングを行った。海苔網からサンプリングを行い葉長、葉幅および品種登録申請に必要なその他の重要形質について比較を行った。それぞれの形質についてt検定を行った。

3. 高塩分処理を用いた採苗試験

試験には、平成20年度漁期に葉長2~3cmまで育苗された黒のり冷凍網を用いた。①冷凍状態の葉体を直接、濾過海水に岩塩を加えて塩分濃度を15%に調製した海水へ90分間浸漬した後、18℃恒温室内にて1/2 SWM-III栄養強化海水で培養を開始した（直接処理）。

また、②冷凍状態の葉体を18℃恒温室内にて1/2 SWM-III栄養強化海水で培養を開始した（養生培養）。24時間後、①、②の葉体をバット内でハケを用いてノリ糸から剥離させ、それぞれ湿重量で1.0g測りとった。その葉体を塩分濃度15%に調製した濾過海水へ90分間浸漬することで高塩分処理を行った。1/2 SWM-III栄養強化海水2Lに高塩分処理を施した①、②の葉体と長さ8cmのノリ糸10本を入れ18℃の恒温室内で通気培養を開始した。1時間毎にノリ糸を取り出し、蛍光顕微鏡で採苗方指数を計測した。採苗数の計測は、蛍光顕微鏡の倍率100倍1視野で確認できる単胞子数を採苗胞子数とした。

4. 化学処理を用いた採苗試験

化学処理による単胞子誘導を試みた。化学処理の方法については、プリン体代謝中間産物であるアラントインを用いた単胞子の放出(嵯峨ら, 2003)をもとにした。試験には、平成20年度漁期に葉長2~3cmまで育苗された黒のり冷凍網を用いた。その葉体を18℃恒温室内にて1/2 SWM-III栄養強化海水で24時間培養した後、葉体をバット内でハケを用いて剥離させ、2N HClでpH2に調製した濾過海水内で3分間の酸処理を施した。アラントイン1.58gを海水1Lに溶解させた後、孔径0.22μmのPES（ポリエーテルサルフォン）メンブレンフィルターで濾過し、アラントイン10mM海水を作製した。クリーンベンチ内で滅菌済の100ml密栓付三角フラスコにアラントイン10mM海水を100ml分注し、酸処理後の葉体を入れて、18℃人工気象器内にて振とう培養（140rpm）を開始した。培養開始3、5、7、9、11日後（5培養条件下）にそれぞれ、2~3cmの葉体5枚をシャーレに取り出し、濾過海水で十分に洗浄した後、ガラス製ホモジナイザーを用いて、緩やかに氷冷しながら3分間ホモジナイズした。得られた細胞懸濁液を100μmメッシュで濾過し、濾液を8cmのノリ糸8本が入った3L枝付きフラスコで通気培養をした。24時間後、採苗状況を蛍光顕微鏡で確認した。その後は、週に1度換水し、培養を続けた。培養開始25~30日後にそれぞれの葉体の写真を撮り、5培養条件下のものを比較した。

結果および考察

1. 高水温耐性候補株の室内試験

培養後14日後の生長はU-51が $500 \pm 284 \mu\text{m}$ に対してMe-t11は $841 \pm 369 \mu\text{m}$ でMe-t11の方が生長が良かった。 $(p < 0.01)$ 。培養後21日後の生長はU-51が $1.8 \pm 0.9\text{mm}$ に対してMe-t11は $6.2 \pm 3.2\text{mm}$ でMe-t11の方が生長が良かった。 $(p < 0.01)$ 。また、U-51は著しい形態異常を起こしたのに対し、Me-t11は軽度な形態異常しか起こらなかった(図1)。培養後35日後の生長はU-51が $12.0 \pm 0.2\text{cm}$ に対してMe-t11は $18.8 \pm 0.5\text{cm}$ でMe-t11の方が生長が良かった。 $(p < 0.01)$ 。

2. 高水温耐性候補株の野外養殖試験

幼葉の葉長葉幅比はU-51が 6.5 ± 1.6 に対してMe-t11は 9.4 ± 3.3 でMe-t11の方がやや幅広であった $(p < 0.05)$ 。成葉の葉形は葉長葉幅比はU-51が 12.0 ± 2.1 に対してMe-t11は 16.8 ± 4.0 でMe-t11の方がやや幅広であった $(p < 0.01)$ 。葉厚はU-51が $17.8 \pm 0.8\text{mm}$ に対してMe-t11は $17.3 \pm 0.8\text{mm}$ でほぼ同程度であった。生殖細胞形成面積率はU-51が $28.5 \pm 9.1\%$ に対してMe-t11は $29.0 \pm 13.9\%$ でほぼ同程度であった。単孢子発芽体量はU-51が $5.3 \pm 2.0\%$ に対してMe-t11は $6.9 \pm 1.5\%$ でほぼ同程度であった。

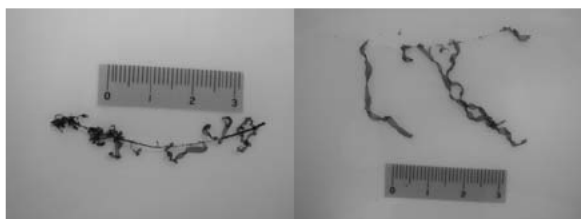


図1. 高水温下培養試験24日後の葉体

3. 高塩分処理を用いた採苗試験

①と②の処理方法では、採苗数に違いが出た(図2)。また、いずれの時間においても採苗数は①の方が②に比べて有意に多い値となった(Tukey-Kramer, $p < 0.01$)。採苗数は、3時間後に①、②共に最大値となった。

例年、黒ノリ養殖漁期(採苗時期)に鈴鹿水産研究所において実施している芽付き検診では、適正採苗数を、倍率100倍の蛍光顕微鏡1視野で10~20個程度としている。このことから、フラスコレベルの試験においては、高塩分処理による単孢子誘導により、計算上海苔網1枚を十分に採苗できる程度の胞子を得ることができた。また、冷凍状態の葉体に直接高塩分処理を行う方が単孢子誘導に効果があることが示唆された。

4. 化学処理を用いた採苗試験

葉体をアラントイン10mM海水中で3, 5, 7, 9, 11日間培養した葉体をそれぞれホモジナイズし、得られた細胞懸

濁液の濾液と共にノリ糸の培養を行った結果、24時間後に全ての条件下のノリ糸から単孢子様の細胞附着を確認した。さらに培養を続けた結果、附着した単孢子様細胞は、葉体へ生長することを確認した。しかし、その生長には条件ごとに違いが見られ、中でもアラントイン10mM海水中にて9日間培養した葉体を用いたものが正常に生長した。一方、3日間培養したものでは、生長が極端に遅かった(図3)。化学処理により、高塩分処理を用いた採苗試験と同程度の採苗を行うことができたが、高塩分処理を用いた採苗試験の方が、採苗にかかる時間、コスト等を勘案すると優れていた。今後は、高塩分処理および化学処理による単孢子誘導での規模拡大採苗試験を試み、ノリ網に実用レベルの単孢子採苗が可能となる技術の開発に取り組みたい。

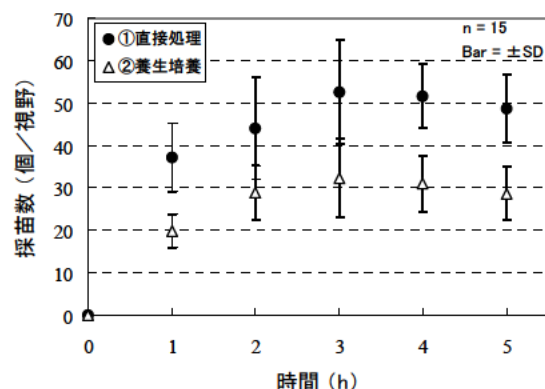


図2. 高塩分処理による採苗数

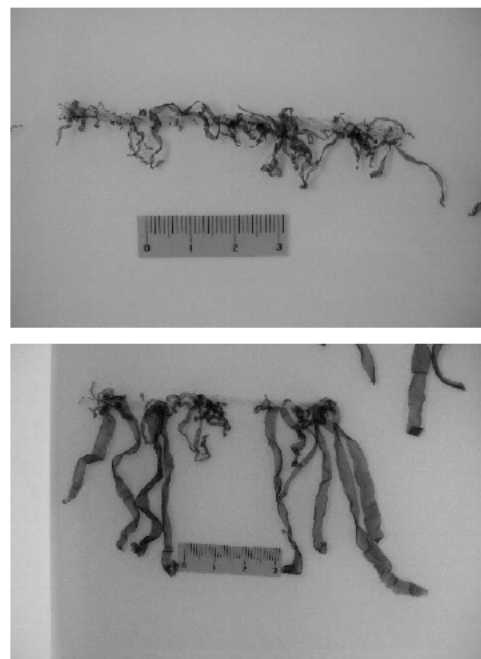


図3. 化学処理による単孢子誘導

(アラントイン10 mM海水中で上: 3日間, 下: 9日間培養した葉体を使用)