

3) 有明海漁場に適合した高水温耐性品種の開発と養殖適性の評価

実施機関・担当者名：

福岡県水産海洋技術センター有明海研究所 内藤 剛、藤井直幹

【背景・目的】

福岡県有明海におけるノリ養殖は、春季から夏季にカキ殻を基質として糸状体を培養し、秋季の水温低下により放出される殻胞子を、養殖漁場でノリ網に付着させ（採苗）、養殖に用いている。しかしながら、近年、福岡県有明海域におけるノリ養殖の採苗は遅れる傾向にあり、養殖期間の短縮化が懸念されている（図 1-3-1）。本課題では、十分なノリ養殖期間の確保によるノリ安定生産のため、育種素材等を用いて、通常の採苗時期よりも高水温の時期に健全な種苗を得ることを目的として、福岡県有明海域の漁場に適合した高水温耐性品種の開発を目指す。

今年度は、高水温耐性品種が養殖現場において実用化されるために必要な、漁期を通じた漁場試験により、実用的な特性を把握するとともに、選抜株の特性を室内試験で確認することを目的とした。

【方法】

（1）漁場試験

福岡有明海漁連が定めた今年度の養殖スケジュールに準じて実施した。

漁場試験は、福岡県柳川市地先の第一種区画漁業権漁場有区第 8 号（通称ななつはぜ）で実施した（図 1-3-2）。

令和 2 年度本事業¹⁾ で使用したものと同様、試験株として 6C 選抜 1 と 6C 選抜 2、対照株として 6C と U-51 を用いた。

品種毎に培養したフリー糸状体をミキサーで細片化し、30 個/cm² となるよう滅菌したカキ殻へ散布した（以下、カキ殻糸状体）。培養海水は、地先海水を殺菌したものに、市販の栄養剤から培養液（第一製網製）を規定量添加し、基本的に月 1 回のペースで換水を行い、4～9 月まで自然光条件で胞子のうを形成させた。カキ殻糸状体内で形成された胞子のうは、採苗 12 日前から、換水等により熟度を促進した。

試験漁場には、予め、幅 18m、長さ 36m の二区画に、長さ 10.5m の FRP 製支柱を各 60 本建て込んだ（図 1-3-3）。採苗網は、1.8m×18m のノリ網を縦に 2 枚繋いだものを 6 枚重ね、品種毎に 4 セット準備した。採苗網の下には、約 80cm 間隔で伸子棒を 50 本取り付け、採苗用ポリ袋（13×14cm 通称ラッカサン）200 枚を、均一に分散するように吊り下げた。採苗は漁業者と同じ 10 月 21 日に実施し、陸上でラッカサンに 1 枚ずつカキ殻糸状体を設置した後、海上に輸送し、FRP 支柱に設置したロープを用いて水平に固定した。

網糸 1cm 当たり約 30 個の発芽体付着を基準とし、U-51、6C 選抜 1 及び 6C 選抜 2 は 22 日、6C は 23 日にカキ殻糸状体を撤去し、育苗を開始した。網は 11 月 9 日に 2～3 枚重ねで 1 品種につき 2 列ずつ漁場に広げ（展開）、11 月 17 日に 1 枚張りとして秋芽網生産を開始し、残りの網は持ち帰り、乾燥後冷凍保管した（冷凍網入庫）。秋芽網は 12 月 15 日に撤去し、12 月 28 日に冷凍保管していた網を漁場に設置した（冷凍網出庫）。

11 月 17 日にさく葉標本を作製し、葉長、葉幅を測定し葉状体に生じたくびれの数进行数した。生産期は摘採前に網糸を切り取って採取し、葉長、葉幅とノリの湿重量を測定した。サンプリングは、秋芽網生産期は 11 月 24 日、12 月 9 日、冷凍網生産期は 1 月 12 日とした。

試験養殖期間中の海況データとして、水温、塩分、栄養塩及びプランクトン量を測定した。水温及び塩分は、試験漁場の真横にある観測塔に設置した海況自動観測装置（水温・塩分計 ATCW-CAD、JFE アドバンテック社製、観測層 0.5m、10 分間隔）で観測したデータを用いた。栄養塩データは、漁期中週 1～2 回、満潮時に試験漁場で採水し、ろ過後オートアナライザー（QuAAtro39、ビーエルテック社製）を用い、溶存態窒素量（DIN）を吸光度法により分析したデータを用いた。プランクトン量として、目合い 0.1mm のプランクトンネットを用いて 1.5m の鉛直曳きによって採取したプランクトンを中性ホルマリンで固定し、固定試料の 24 時間静置後の沈殿量を測定したデータを用いた。

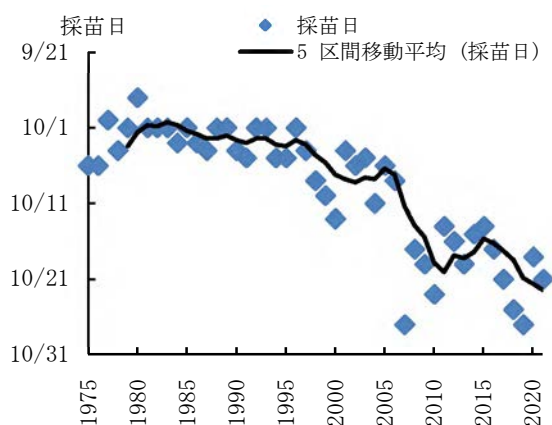


図 1-3-1. 採苗日の推移



図 1-3-2. 試験漁場図

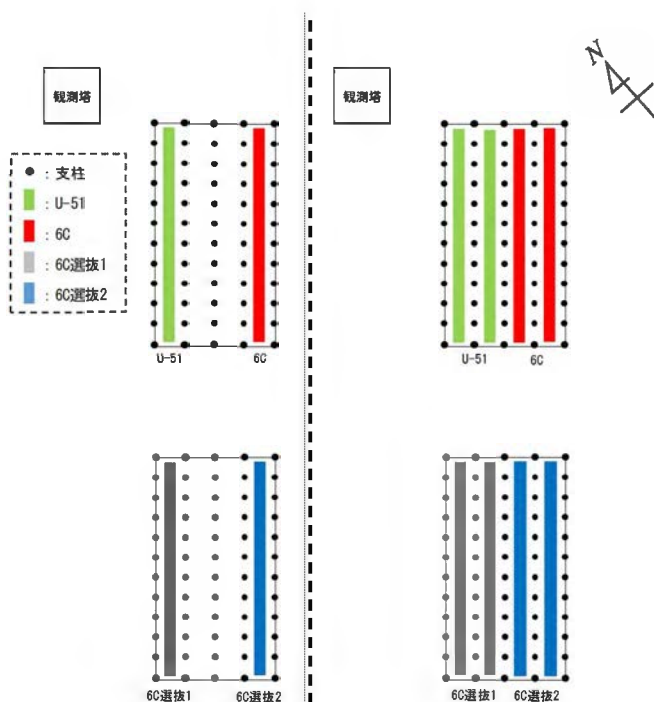


図 1-3-3. 施設配置図(左:採苗、右:展開～養殖)

(2) 室内培養試験

(1) で用いた 4 品種に、令和 2 年度本事業¹⁾ で 6C 選抜 1 から生長の速い葉体を選抜した 6C 選抜 1-1 を加えた 5 品種について、カキ殻糸状体を作成、3cm 長に切ったクレモナ糸に採苗し、発芽体の付着数が 10 個/cm 前後のものを 5 本ずつ 300ml 丸底フラスコに移して通気培養を行い、14、21 日後に発芽体の生長、生残と形態異常の有無を測定した。

通気培養は、塩分 30、光源に 3 波長昼白色蛍光灯を用い、光強度 $60\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$ 、光周期 11 時間明期：13 時間暗期条件下で行い、培養液は地先海水に 1/2SWM-III 改変培地を添加し、 $0.2\mu\text{m}$ のメンブランフィルターで濾過滅菌したものを使用した。試験区は 14 日目まで水温 24°C 、以降 21 日目まで 18°C で、対照区は全期間 18°C で培養した。

【結果および考察】

(1) 漁場試験

(i) 育苗期 (11 月 17 日)

葉長を図 1-3-4 に示す。6C、6C 選抜 1、U-51、6C 選抜 2 の順で大きかった。品種間で分散分析による有意差検定を行ったところ、6C と他の 3 品種との間で有意差 ($p<0.05$) があった。

葉幅を図 1-3-5 に示す。6C、U-51、6C 選抜 1、6C 選抜 2 の順で大きかった。品種間で分散分析による有意差検定を行ったところ、全品種間で有意差 ($p<0.05$) はなかった。

葉状体 1 枚当たりのくびれ数を図 1-3-6 に示す。U-51 の 1 個体 1 か所のみ確認された。

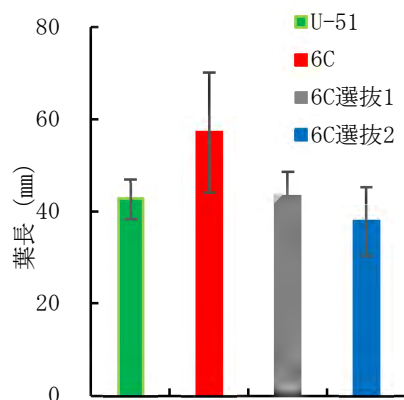


図1-3-4. 葉長(育苗期)

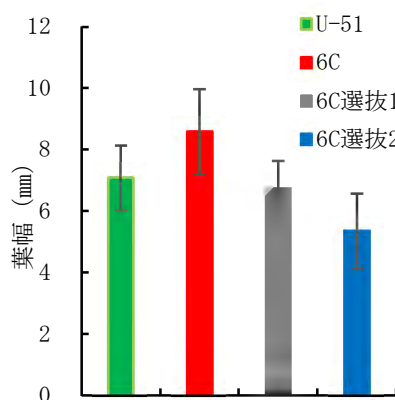


図1-3-5. 葉幅(育苗期)

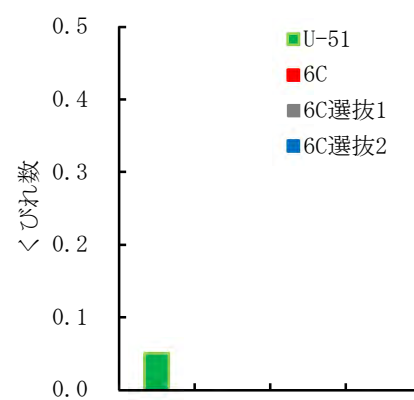


図1-3-6. くびれ数(育苗期)

※エラーバーは標準偏差、以下同じ

(ii) 生産期

葉長の推移を図 1-3-7 に示す。11 月 24 日及び 1 月 12 日は 6C が最も大きく、12 月 9 日は U-51 が最も大きかった。品種間で分散分析による有意差検定 ($p<0.05$) を行ったが、品種間の差はサンプリング毎に異なり、一定の傾向は認められなかった。

葉幅の推移を図 1-3-8 に示す。品種間で分散分析による有意差検定 ($p<0.05$) を行ったが、品種間の差はサンプリング毎に異なり、一定の傾向は認められなかった。

網糸 1 cm 当たりの湿重量の推移を図 1-3-9 に示す。11 月 24 日及び 1 月 12 日は 6C 選抜 1 が最も大きく、12 月 9 日は U-51 が最も大きかった。

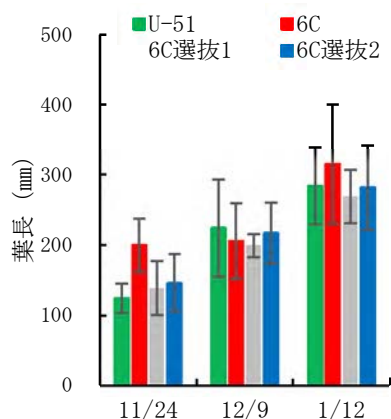


図1-3-7. 葉長(生産期)

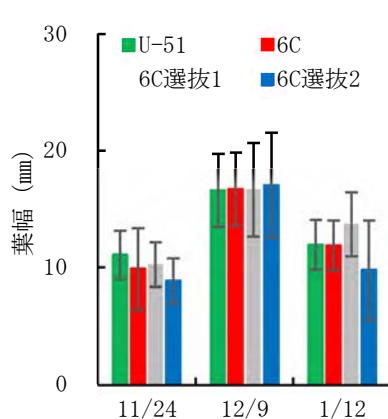


図1-3-8. 葉幅(生産期)

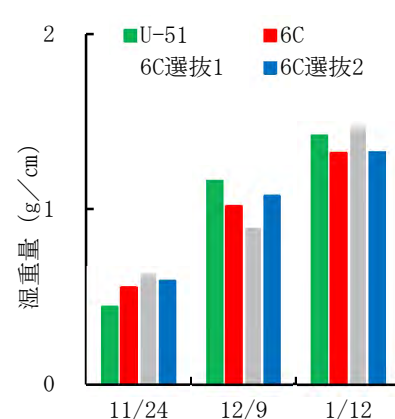


図1-3-9. 湿重量(生産期)

(iii) 海況

漁場試験養殖期間中の水温、塩分、DIN、プランクトン沈殿量及び水温平年値（1991～2020年の30年平均値）の推移を図1-3-10に示す。いずれの数値も昼間満潮時のものを用いた。10月21日の採苗日の昼間満潮時水温は21.9℃で、採苗適温である23℃以下²⁾であった。その後徐々に水温は低下、秋芽網生産期は12.1℃～17.6℃で推移し、ほぼ平年並であった。冷凍網出庫日の12月28日は平年値より1.3℃低い10.1℃で、その後冷凍生産期は1月31日までほぼ平年並で推移した。

1月31日までの生産期中、ノリの生長を阻害する塩分21³⁾を下回ることにはなかった。

DINは、採苗前の10月19日から冷凍入庫前の11月11日までは十分量の7.5μMから17.6μMで推移したが、秋芽網生産期、冷凍網生産期ともに、ノリ色落ちの指標となる7μM⁴⁾を下回ることが多かった。

プランクトン沈殿量は、採苗前の10月12日から秋芽網生産期の12月17日までは1ml/100Lを下回る数値で推移したが、撤去期間前の12月20日から冷凍網出庫直前の12月27日までは1ml/100Lを超え、その後冷凍網生産期は1ml/100Lを下回っていたが、育苗期から秋芽網生産期初期と比較すると高めの水準で推移した。優占種は動物プランクトンと夜光虫 *Noctiluca scintillans* で、ノリと栄養塩を競合する種ではなかった。

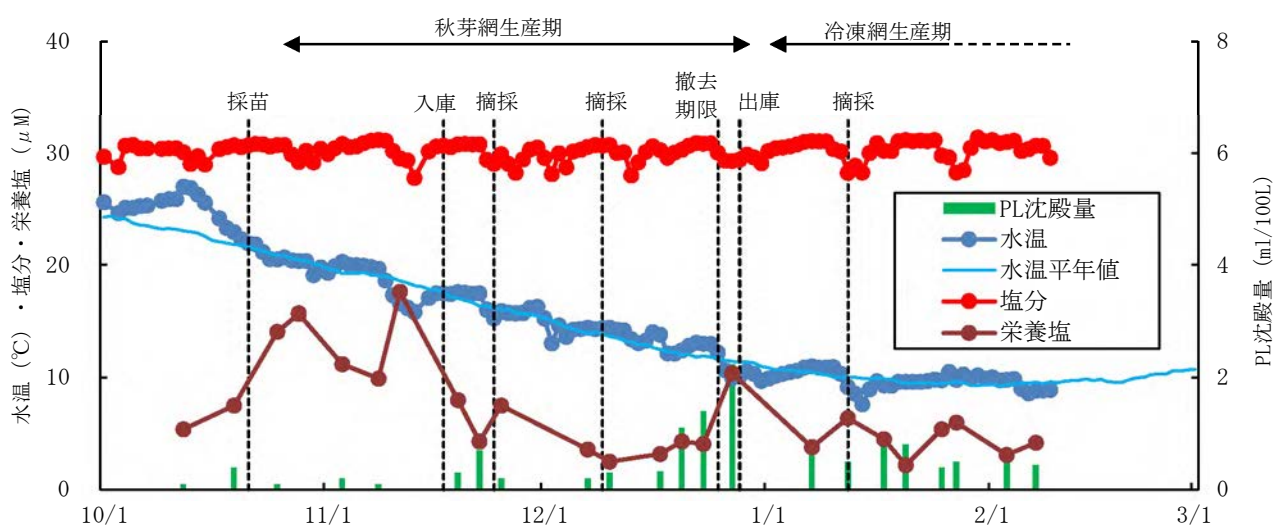


図1-3-10. 海況の推移

(2) 室内培養試験

葉長の推移を図 1-3-11 に示す。14 日目は試験区、対照区ともに品種間の顕著な差は認められなかったが、21 日目はいずれも 6C 選抜 1-1 が最も大きかった。また U-51 を除く 4 品種で、試験区の方が対照区より大きい傾向が認められた。品種間で分散分析による有意差検定 ($p<0.05$) を行ったところ、試験区では U-51 と他の 4 品種との間で、対照区では 6C 選抜 1 と他の 4 品種との間で有意差があった。

生残率の推移を図 1-3-12 に示す。U-51 の試験区で漸減していたが、他の区ではいずれも 90%以上の高い水準で推移した。

形態異常発生率の推移を図 1-3-13 に示す。いずれの品種も試験区では 8%以上の高い値を示したが、対照区では低い水準で推移した。

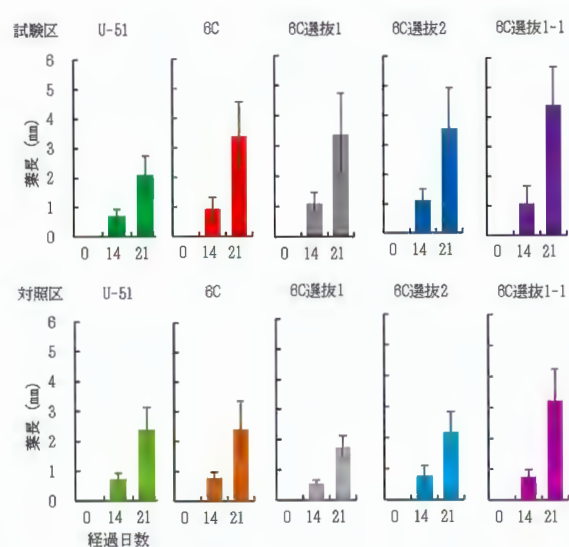


図1-3-11. 葉長(室内培養試験)

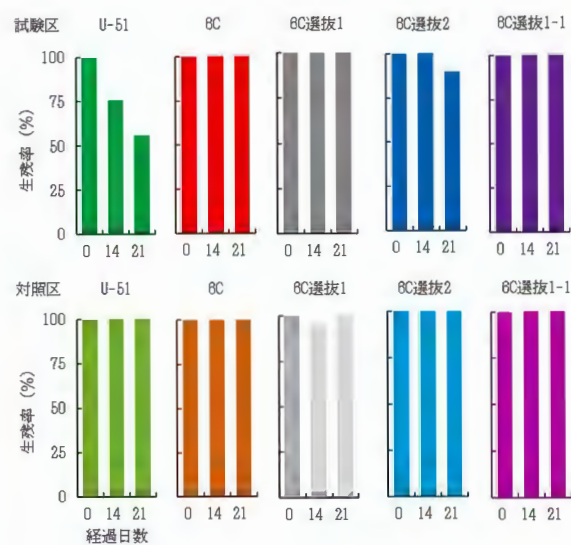


図1-3-12. 生残率(室内培養試験)

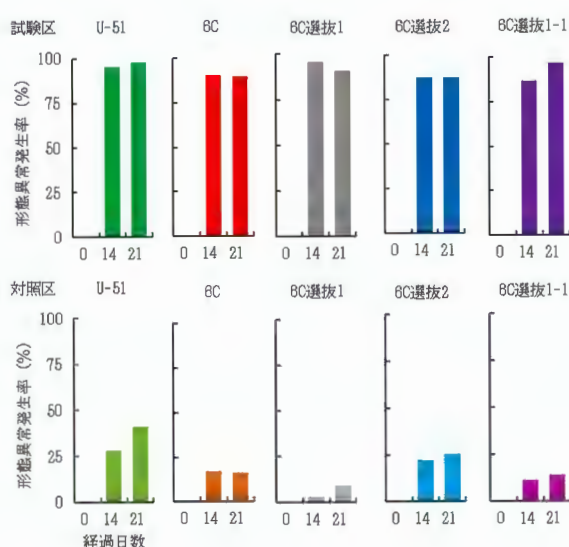


図1-3-13. 形態異常発生率(室内培養試験)

(3) 考察

漁場試験の結果、昨年度¹⁾と同様、育苗期に 6C が他の 3 品種と比較して有意 ($p<0.05$) に大きいことが認められたが、生産期は葉長、葉幅とも品種ごとに一定の傾向は認められなかった。採苗から秋芽網生産期までの水温を昨年度と比較すると (図 1-3-14)、採苗から 19 日目までは差がほぼ 1℃以内であったが、20 日目から 48 日目までの全期間で昨年度の方が 0.4~3.2℃高かった。同様に冷凍網出庫から冷凍網生産期の水温を比較すると (図 1-3-15)、出庫から 13 日目までは今年度の方が 0.4~3.8℃高かったが、14 日目以降 40 日目までのほぼ全期間で昨年度の方が高く、40 日目までの傾向は、今年度は低下、昨年度は上昇であった。これらのことから、品種間の生長に差がでるか否かについては生産期の水温が影響していることが推測されるが、詳細は不明であった。

室内培養試験の結果、6C とその選抜品種は U-51 と比較して高水温での生長、生残に優れ、特に 6C 選抜 1-1 の生長が速かったため、選抜を繰り返すことで高水温での生長が良くなることが示唆されたが、形態異常発生率はいずれの品種でも 85%以上と高く、実用化に向けた課題が残った。

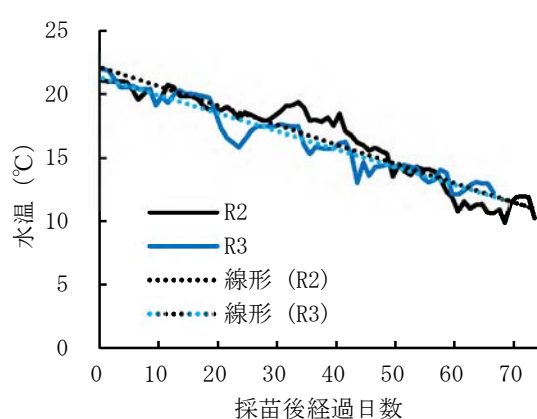


図1-3-14. 採苗後の水温

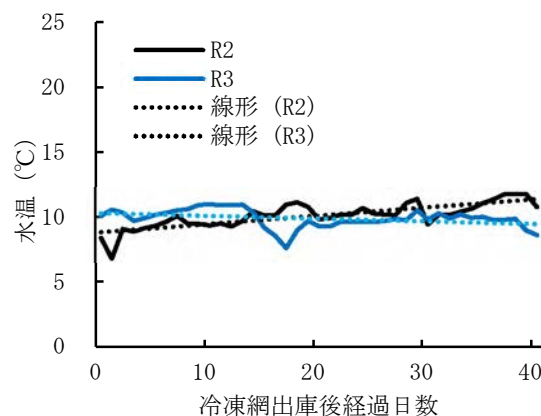


図1-3-15. 冷凍網出庫後の水温

【4 カ年のまとめ】

平成 30 年度及び令和元年度に 4C、6C、アオクビ、U-51 を用いて高水温漁場で採苗試験を行った結果、水温が 25℃を超えても殻胞子の放出及び網への付着は認められるが、発芽体の生長には 25℃を下回ることが必要であると考えられた (図 1-3-16~1-3-20)。

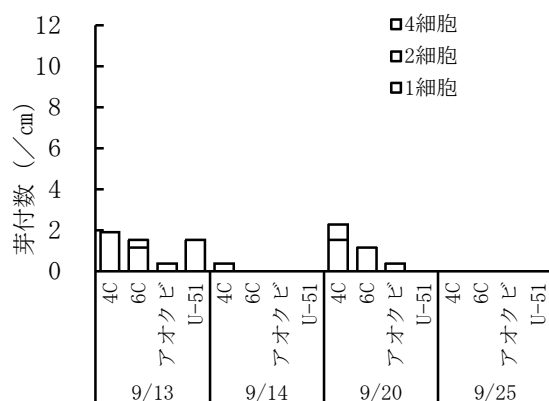


図1-3-16. 高水温漁場採苗試験 (H30)

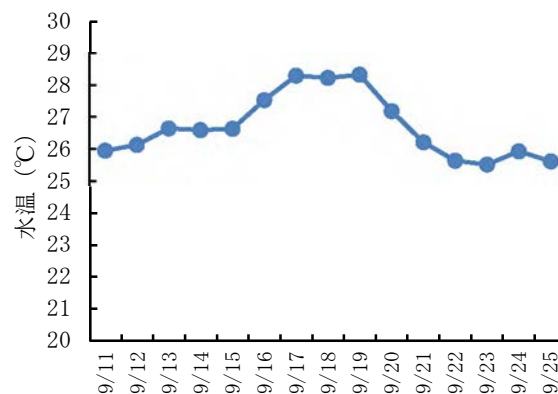


図1-3-17. 昼間満潮時の水温 (H30)

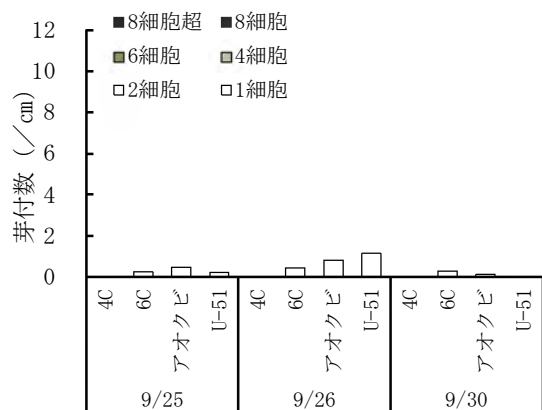


図1-3-18. 高水温漁場試験 (R元・1R)

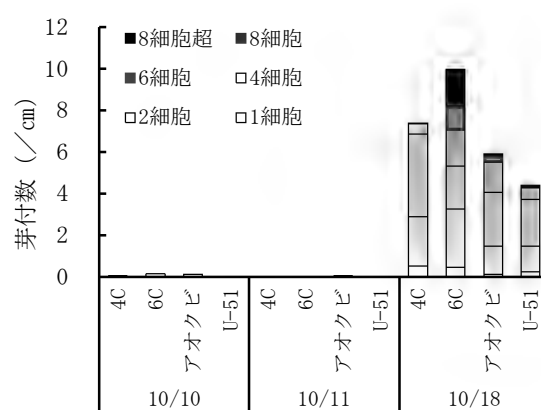


図1-3-19. 高水温漁場試験 (R元・2R)

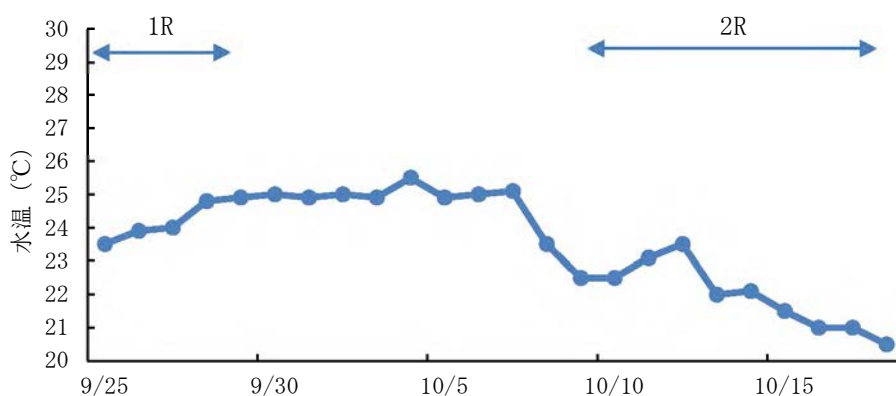


図1-3-20. 水温 (R元)

令和元年度に高水温漁場試験で得られた種系を用いて 24°Cで 14 日、18°Cで 7 日培養した結果、6C の生長が速かったが (図 1-3-21)、全品種で形態異常発生率は 100%であった (図 1-3-22)。6C から生長に優れた葉状体を選抜し、糸状体を採取した。

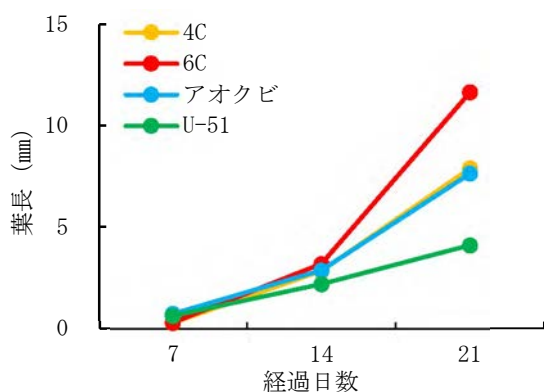


図1-3-21. 葉長 (R元・室内培養試験)

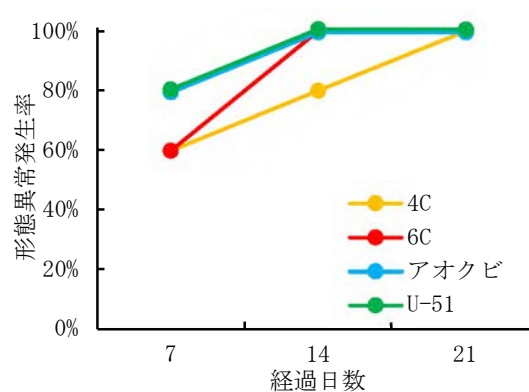


図1-3-22. 形態異常発生率 (R元・室内培養試験)

令和 2 年度、3 年度は、令和元年度に得られた 6C 選抜 1、6C 選抜 2 と、対照株として 6C 及び U-51 を用い、通常の養殖スケジュールに合わせた漁場試験を行った。両年度とも育苗期は 6C の生長が最も速かった (図 1-3-4、1-3-23)。生産期は、令和 2 年は 6C 選抜 1 の葉長が大きい傾向が認められたが (図 1-3-24、1-3-25)、令和 3 年度漁期は品種ごとの明確な特徴は認められなかった (図 1-3-7)。

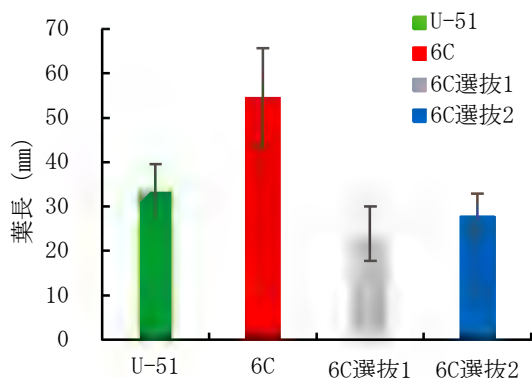


図1-3-23. 葉長 (R2・育苗期)

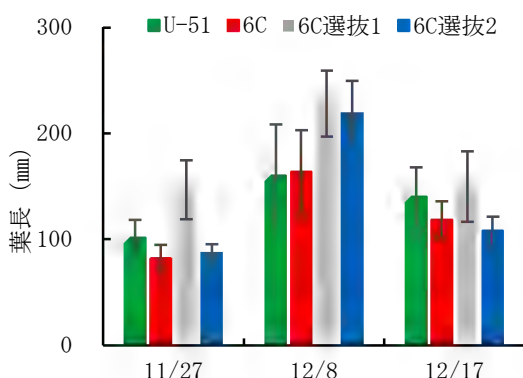


図1-3-24. 葉長 (R2・秋芽網生産期)

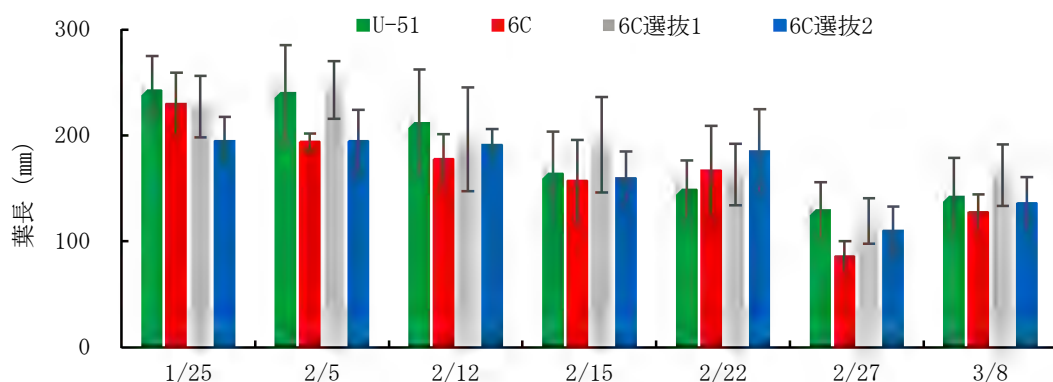


図1-3-25. 葉長 (R2・冷凍網生産期)

令和3年度に、6C選抜1、6C選抜2、6C、U-51に加え、令和2年度に6C選抜1から選抜した6C選抜1-1の5品種を用いて室内で採苗し、24℃で14日、18℃で7日培養した結果、6C選抜1-1の生長が速かったが（図1-3-11）、形態異常発生率はいずれの品種でも85%以上であった（図1-3-13）。

以上のことから、選抜を繰り返した株ほど高水温下での生長が速くなることが示唆されたが、形態異常発生率の高さが課題として残った。

【参考文献】

- 1) 国立研究開発法人水産研究・教育機構 他, 令和2年度養殖業成長産業化技術開発事業 (6) 環境変化に適応したノリ養殖技術の開発 報告書, pp.15-21(2021)
- 2) 三根崇幸・横尾一成・川村嘉応, 高水温条件下におけるノリの殻胞子放出, 有明水産振興センター研究報告, 第23号, pp.1-3(2007).
- 3) 切田正憲, 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, 42-44(1993)
- 4) 半田亮司 他, 1992年度有明海福岡県地先ノリ養殖における特異な色落ち現象, 福岡県水産海洋技術センター研究報告, 第2号, 135-141(1994)

【成果の公表】

なし。

4) 浮き流し養殖漁場に適合した高水温耐性品種の開発と養殖適正の調査

実施機関・担当者名：

愛知県水産試験場 成田 正裕、中島 広人、中村 元彦、谷川 万寿夫
日比野 学、鈴木 貴志、阿知波 英明、村田 将之

【背景・目的】

浮き流し養殖漁場は、支柱柵漁場に比べて沖側に位置するため、波浪が強い傾向がある。さらに、ノリ葉状体の海水への浸漬時間が長く生長が速いため、ノリ葉状体が受ける波浪の力も支柱柵漁場より大きくなる。このため、浮き流し養殖漁場においてはノリ葉状体のノリ網への付着力が強いことが求められる。

本課題では、農林水産技術会議の委託研究で育成された水研が保有する高水温耐性育種素材を活用して、ノリ網への付着力が強い高水温耐性品種の開発を目指す。このため、ノリ網への付着力を比較調査するとともに、さらに付着力を高め、浮き流し養殖漁場に適合した高水温耐性品種の作出とその養殖適性を評価することを目的とする。

【方法】

(1) 新品種候補の野外養殖試験

高水温耐性育種素材を活用して、ノリ網への付着力が強い高水温耐性品種の開発を目指すため、これまでに得られた新品種候補（6C 愛知及び 4C シゲカズ）の糸状体^{1)、2)}を用いて野外養殖を行い、その養殖特性を評価して付着力の向上について調査した。対照品種として、U-51 を用いた。

採苗は 9 月 20 日から 22 日にかけて陸上採苗により行い、採苗網は育苗期まで冷凍保存した。育苗は南知多町篠島地先において漁業者の養殖開始より 4 日早い 10 月 18 日に開始し 11 月 16 日まで実施した。育苗期間中の網管理は篠島漁業協同組合に依頼した。

野外養殖は水産試験場漁業生産研究所地先において浮き流し方式で行い、魚類による食害を避けるため、海苔網をテグス 10 号目合い 150 mm の防魚網で囲った。

海苔網は 11 月 17 日に張り込み、11 月 29 日、12 月 7 日、20 日に葉状体を摘採し、摘採前後に海苔網を脱水して重量を測定し、その差を収穫量とした。毎摘採前に大型の葉状体 20 本についてさく葉標本を作成し、葉長、葉幅及び葉面積を測定した。

また、1 回目摘採前に海苔網から網糸 1 節をサンプリングし、葉状体 20 本について既報の方法³⁾により付着力の測定を行った。付着力は Steel Dwass 検定により有意差を検定した ($p<0.05$)。

(2) 新品種候補の室内培養試験

6C 愛知、4C シゲカズ、U-51 の 3 品種を 4cm のビニロン単糸に採苗し、表 1-4-1 の高温条件で 40 日間培養し、単孢子放出、奇形率、付着力、葉長及び葉幅を比較した。培養は 1L 枝付き丸フラスコで、培地は NPM-Fe を用い換水は 1 週間に 1 回行った。

表 1-4-1. 培養条件

培養日数	0 日～	14 日～	21 日～	28 日～
水温	24℃	22℃	20℃	18℃(室温)

単胞子放出量は培養開始から 1 週間毎に新たなビニロン単糸を 3 本培養水に投入し、翌週に二次芽を計数することにより調べた。

奇形率は、培養開始 1 週間及び 2 週間後ではビニロン単糸状の葉体を検鏡し、単糸 1 本の葉数に対する奇形葉の割合とした。また、培養開始 3 週間後ではさく葉標本作製し、葉数に対する奇形箇所数の割合を奇形率とした。

付着力は、培養開始 40 日後に葉状体 20 本について既報の方法³⁾により測定した。付着力は Steel Dwass 検定により有意差を検定した ($p<0.05$)。また、測定を行った葉体でさく葉標本作製し、葉長及び葉幅を測定した。

【結果および考察】

(1) 新品種候補の野外養殖試験

収穫量の推移を図 1-4-1 に示した。1 回目摘採、3 回目摘採及び総収穫量は U-51 が最も多い結果となった。6C 愛知と 4C シゲカズの間に明確な違いはみられなかった。

摘採時毎の葉長、葉幅及び葉面積を図 1-4-2～5 に示した。1 回目摘採時のみ 4C シゲカズが他の 2 品種よりもやや幅広の傾向がみられたが、いずれの品種も摘採を重ねる度に葉体が幅広になっていった。

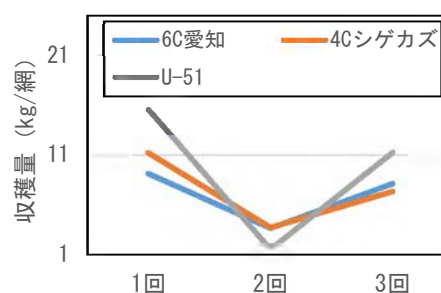


図 1-4-1. 収穫量の推移

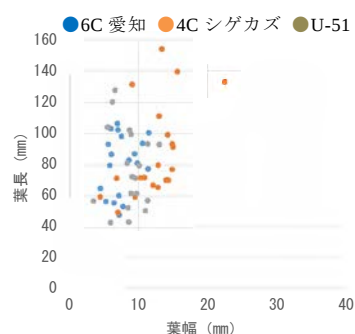


図 1-4-2. 1 回目摘採時の葉長及び葉幅

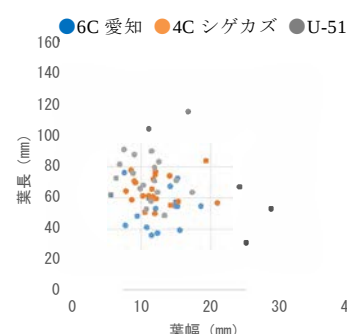


図 1-4-3. 2 回目摘採時の葉長及び葉幅

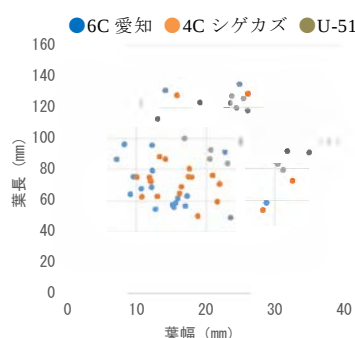


図 1-4-4. 3 回目摘採時の葉長及び葉幅

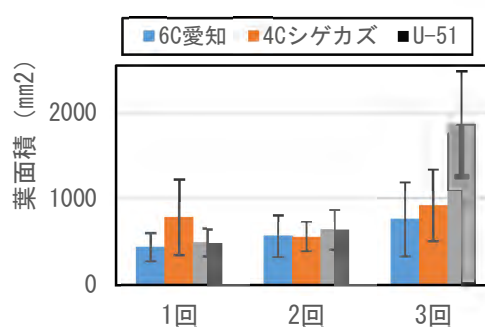


図 1-4-5. 摘採時毎の葉面積

付着力の測定結果を図 1-4-6 に示した。付着力は U-51、6C 愛知、4C シゲカズの順に強く、U-51 と 4C シゲカズの間に有意差が確認された。

今年度は漁業者の養殖開始より早期に育苗を開始したが、網の張り込み前後に水温の急激な低下が確認され、高水温でなく適正水温での養殖となった(図 1-4-7)。そのため、3 品種とも高水温障害はみられなかった。

適正水温での養殖において 6C 愛知は U-51 と同程度、4C シゲカズは弱い付着力であるが、それぞれの派生元である 6C 及び 4C の短所であった付着力は浮き流し漁場で芽落ちしない水準まで改善されていることを確認した。

実際の漁場では、葉体が海苔網から抜けるかどうかは付着力の強さの他に葉面積も関係すると推察される。付着力と基部幅は強い相関があることがわかっている⁴⁾が、葉体の抜けやすさという観点では、それらと葉面積の関係について検討する必要があると考えられた。

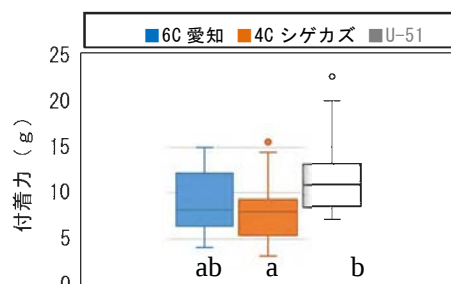


図 1-4-6. 付着力の比較

アルファベットは異なる文字間で有意差があることを示す

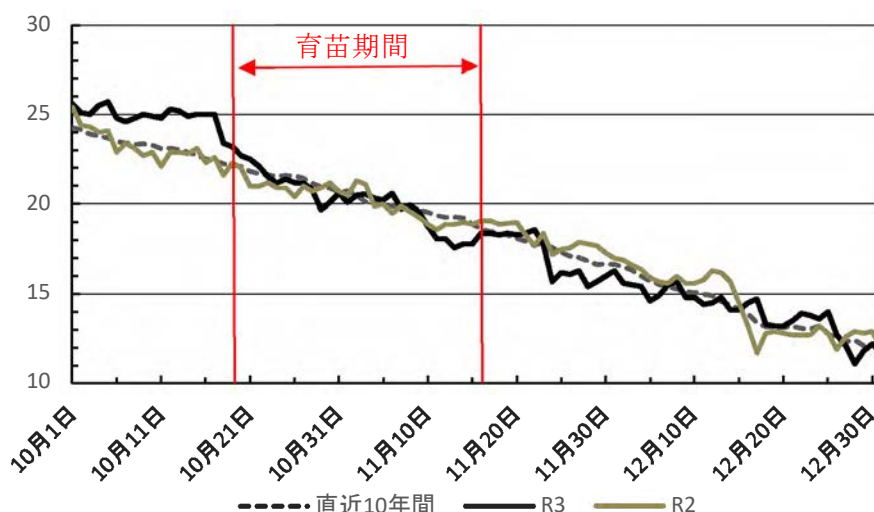


図 1-4-7. 水産試験場漁業生産研究所地先表層水温の推移

(2) 新品種候補の室内培養試験

週毎の単孢子放出量を表 1-4-2 に示した。いずれの品種も培養開始から 3 週間後に放出のピークがみられ、放出量は 4C シゲカズが最も多く、6C 愛知が最も少なかった。この結果から U-51 と比較して、6C 愛知は単孢子を幾分放出しにくく、4C シゲカズは多く放出すると考えられた。

表 1-4-2. 単孢子放出量の推移

	1 w	2 w	3 w	4 w	5 w
6C愛知	0	0	1	0	0
4Cシゲカズ	0	3	68	5	0
U-51	0	0	4	0	0

奇形率の推移を図 1-4-8、1-4-9 に示した。培養開始 1 週間後は品種間に差は見られなか

ったが、2週間後以降の奇形率は6C愛知が最も低く、次点で4Cシゲカズ、U-51が最も高い奇形率を示し、6C愛知及び4Cシゲカズはそれぞれの元素材である6C及び4Cの高水温耐性を有していることが示唆された。

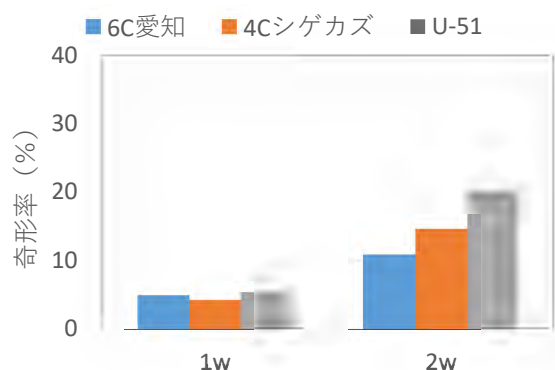


図 1-4-8. 培養開始 1, 2 週間後の奇形率



図 1-4-9. 培養開始 3 週間後の奇形率

付着力の測定結果を図 1-4-10 に示した。付着力は 4C シゲカズが他の 2 品種よりも有意に強く、6C 愛知、U-51 の間に有意差は確認されなかった。6C 愛知及び 4C シゲカズの付着力は標準品種と比較して同等以上であったため、それぞれの元素材 6C 及び 4C から付着力は改善されていると考えられた。

葉長及び葉幅を図 1-4-11 に示した。6C 愛知は成長が良く、細葉の傾向が見られ、4C シゲカズは幅広の傾向が見られた。

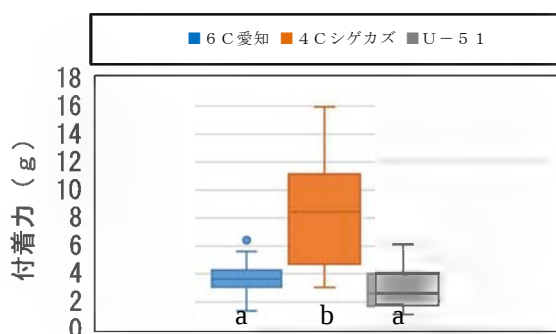


図 1-4-10. 付着力の比較

アルファベットは異なる文字間で有意差があることを示す

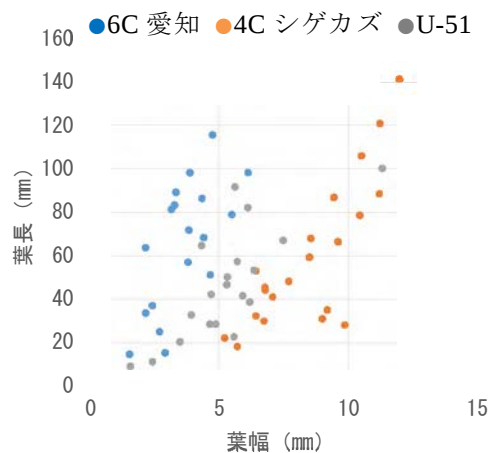


図 1-4-11. 葉長及び葉幅

【4 カ年のまとめ】

- ・秤 (FA-2000、A&D 社) と重量記録計 (R-112、津島製作所) を活用したノリ葉体の付着力評価手法を確立した。
- ・高水温耐性育種素材 6C を高水温条件で培養、選抜して得た 6C 高温選抜から出現した。クビレが少なく高生長の葉体から糸状体を採取し、新品種候補 6C 愛知を得た。
- ・高水温耐性育種素材 4C を高水温条件で培養、選抜して得た 4C 高温選抜と、付着力の強い愛知県保有株シゲカズを高温選抜したシゲカズ高温選抜をかけ合わせ、新品種候補 4C シゲカズを得た。
- ・6C 愛知及び 4C シゲカズは元素材の 6C 及び 4C の強みである高温耐性を持ち、短所であった付着力は浮き流し養殖漁場で芽落ちしない程度まで改善されていることを確認した。

【参考文献】

- 1) 水産研究・教育機構（2020）平成 31 年度養殖業成長産業化技術開発事業（6）環境変化に適応したノリ養殖技術の開発報告書，21-25
- 2) 水産研究・教育機構（2021）令和 2 年度養殖業成長産業化技術開発事業（6）環境変化に適応したノリ養殖技術の開発報告書，23-26
- 3) ノリ養殖技術開発共同研究機関（2019）平成 30 年度環境変化に適応したノリ養殖技術の開発委託事業報告書，23-26
- 4) 阿部真比古（2021）紅藻スサビノリのヒキ（活着力）と葉状体の基部長・基部幅との関係． *Journal of Fisheries University* 69（3）75-79

【成果の公表】

なし

5) 派生株の高水温耐性調査および育成株の成分調査

実施機関・担当者名：

水産研究・教育機構水産技術研究所 藤吉栄次、村田裕子、玉城泉也^{*1}、中川雅弘^{*2}、
大村裕治^{*3}

(^{*1} 30-31 年度 現 機構本部、^{*2} 30-2 年度、^{*3} 2 年度 現 機構開発センター)

協力機関：

愛知県水産試験場漁業生産研究所、岡山県農林水産総合センター水産研究所、
福岡県水産海洋技術センター有明海研究所、熊本県水産研究センター

【背景・目的】

近年の地球温暖化の進行による水温上昇により、ノリの生産に大きな影響が生じている。特に漁期開始時の水温降下の遅れは、幼芽に異常を生じさせ、生産量や品質の低下を招くため、その対策として漁期開始が繰り下げられている。その結果漁期の短縮が生じることになり、生産に悪影響を与えている。そこで、農林水産技術会議の委託プロジェクト研究（平成 25～29 年度）では、漁期初期の高水温条件下を乗り切れる育種素材の育成を目指した（藤吉ら 2019a,b）。得られた育種素材の 2 株、6C および 4C（技会プロ研報告書ではそれぞれ A2 および C と記載）については、本事業の他課題において実用品種の育成に用いられているが、育種素材の育成過程や育種素材と同様な手法で育成された派生株等にも有望な株が含まれている可能性がある。そこで本課題では、未調査となっている有望な派生株等について、培養実験で高水温耐性を調査することを目的としている。また、育種素材等については、野外養殖試験等で栽培された葉状体の遊離アミノ酸組成を分析することにより、味の面から養殖品種としての適性を調査する。

【方法】

（1）派生株等の高水温耐性調査

農林水産技術会議の委託研究において、高水温耐性育種素材の育成に用いた手法と同様な手法で、アサクサノリ倉岳（野生種を 20℃の室内培養で 1 回選抜）をプロトプラスト選抜して得られた倉 A を再選抜した倉 A3 を母株にして、さらに選抜を行った。選抜法は 4C 育成時と同じく高水温障害の見られない正常部を自家受精させる方法を用いた（図 1-5-1 下）。同様の手法で令和 2 年度に対照として用いた倉岳 C も再選抜した。倉 A3 由来の系統を倉 A3A、倉 A3B、倉 A3C、倉岳 C 由来の系統を倉岳 C1 とした（図 1-5-1 下）。また、令和 2 年度結果で倉岳 C に高水温耐性が推測されたので、対照には熊本県天草上島に自生の葉状体から果胞子取りした倉岳野生（倉岳の母株、図 1-5-1 上）を用いた。実験は倉岳 C、倉 A3A、倉 A3C（培養試験 A）と倉岳 C、倉岳 C1、倉 A3B（培養試験 B）に分けて行った。

フリー系状体よりカキ殻系状体を作り、数か月かけて増殖および成熟させた。カキ殻系状体が十分成熟したことを確認した後、1～2 週間かけて殻胞子を放出させた。得られた殻胞子を約 3 cm のクレモナ単糸に付着させ、24℃の高水温で、続いて 18℃（適水温）で計 21 日間枝付きフラスコを用いて通気培養し、葉状体に生じるくびれ数の増加を調べた（図 1-5-2、藤吉ら 2019a）。高水温障害による組織の多層化の影響でくびれ数が増加するので、くびれ数が多いほど高水温の影響をより強く受けていることになり、くびれ数が少ないほど高水温による悪影響が少なく、

高水温耐性が強いと考えられる。

培養条件は、光量 $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 、日長 10L : 14D とした。培養液には栄養強化海水の 1/2SWM-III 改変培地を用いた。測定は生長の良好な大型の個体について行った。

予備実験を行った結果、令和 3 年度の葉状体の生長は良好とは言えない状況で、 24°C の高水温で 14 日間、続いて 18°C で 7 日間の条件では葉状体のかなりの部分に多層化等のひどい高水温障害がみられる個体が多数確認されたため、高水温 24°C での培養期間を 10 日間に短縮し、 18°C での期間を 11 日間に延長して実験を行った。培養試験 A では、この条件でも葉状体を横断する形での多層化部分がかかり見られた。くびれ数での比較が困難であると考えられるので、多層化部の長さおよび葉長に占める比率で比較した。また、 18°C で 21 日間条件での培養も行った。

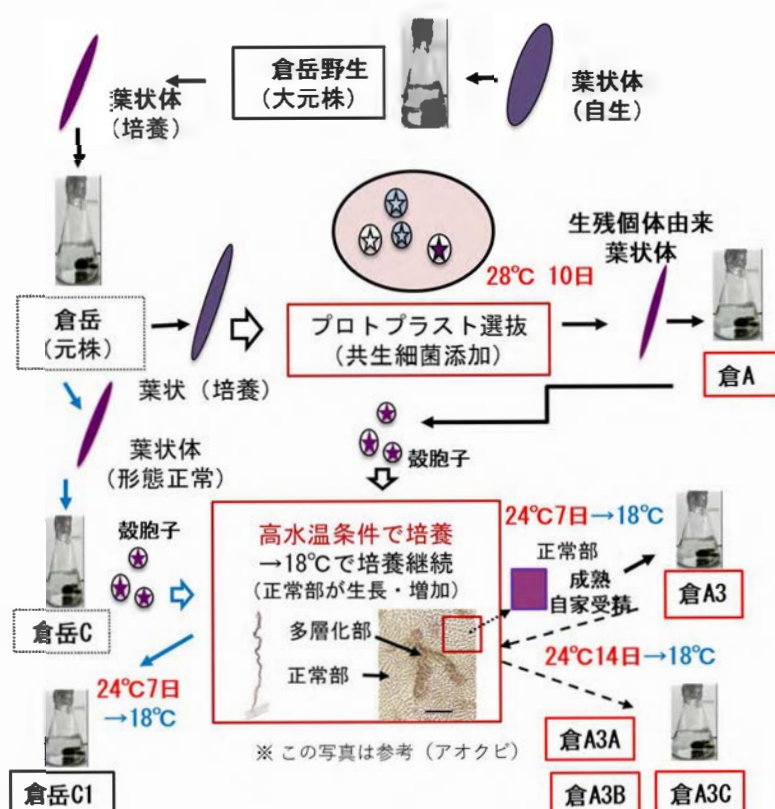


図 1-5-1. 派生株等の育成法の概要

スケール 1mm.

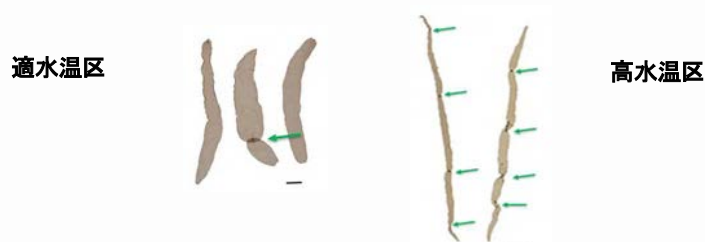


図 1-5-2. 高水温培養でのくびれ数の増加

材料 アオクビ, 条件 適水温区 18°C 21 日 高水温区 24°C 14 日 → 18°C 7 日
 ※ 高水温区ではくびれの増加が観察される. 藤吉ら (2019a) を一部改変

（２）育成株等の成分調査

材料には、野外養殖試験および野外培養試験で栽培された葉状体を中心に、一部室内培養した葉状体も用いた。野外養殖分は岡山県農林水産総合センター水産研究所、福岡県水産海洋技術センター有明海研究所、愛知県水産試験場漁業生産研究所から、野外培養分は熊本県水産研究センターから葉状体の分譲を受けた。室内培養は水産技術研究所で行った。

ペーパータオル等で脱水した試料 1g（湿重）をユニパックに入れ、一晚凍結乾燥後、乾燥重量を計測し、遊離アミノ酸の抽出に供した。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（各試料のこれにより求めた水分含量を用いて、以下で測定する湿重量当たりの遊離アミノ酸分析値を乾燥重量当たりの値に換算する）。この遊離アミノ酸の抽出と分析は、Noda *et al.*（1975）および玉城ら（2014）を参考に、以下の方法で行った。遊離アミノ酸の抽出方法は Noda *et al.*（1975）に従い、75%エタノールを用いて 90℃湯浴中で 3 回抽出を行い、全量の溶液を合わせて 35℃湯浴中で約 100 ml まで濃縮した。抽出液はクロロフィル等の脂溶性成分を Sep-Pak C18 カートリッジ（Waters Corp.）を用いて除去した。ろ過液はロータリーエバポレーター N-1000（東京理化工機（株））を用いて減圧下で蒸発乾燥させ、2 ml のクエン酸リチウム緩衝液（pH2.6）へ溶解し、0.2 μm フィルターで濾過して分析用検体とした。遊離アミノ酸は、L-8900 型日立高速アミノ酸分析計を用いて分析を行った。

（i）派生株等

平成 31 年度の結果で、高水温耐性の向上がみられた女 D（女川 D）の遊離アミノ酸含量を調べ、元株および対照品種の U-51 と比較した。女 D は、技会プロ研と同様な手法でスサビノリ養殖品種女川スサビから育成した株である。元株の女川スサビは、生長がよく、赤ぐされ病に比較的強く、遊離アミノ酸含量が多いという結果が室内培養実験で得られている（藤吉他 2014）。材料は 18℃で室内培養した葉状体を用いた。その他の培養条件は、令和 3 年度の葉状体の室内培養実験と同様である。

（ii）育種素材等

材料は、育種素材の 4C（岡山県、熊本県で使用。以下同様）、6C（愛知県、福岡県）および 4C の岡山県再選抜株 4C-5、4C-6（岡山県）、6C の愛知県県再選抜株 6C 愛知（愛知県）、6C の福岡県再選抜株 6C-1、6C-2（福岡県）、4C と 6C の元株のアオクビ（岡山県）、4C と愛知県養殖品種シゲカズとの交雑株 4C シゲカズ（愛知県）、女川スサビ選抜株女 D（女川 D 熊本県）、熊本県育成品種 AH（熊本県）、岡山県で一般的に使用されている一般養殖種 B（岡山県）を用いた。対照にはスサビノリ養殖品種の U-51 を用いた。養殖法は愛知県と岡山県は浮き流し式で、福岡県は支柱式で行った。

【結果および考察】

（１）派生株等の高水温耐性調査

対照には倉岳野生を用いた。また比較用として、令和 2 年度に対照として用いた倉岳 C を両区で用いた。葉状体の生長は令和 2 年度より遅く、良好とは言えない状況であった。各株とも葉状体からの単胞子の放出が多く、培養終了時には培養容器底部に沈殿が確認された。単胞子の放出による葉状体先端部の崩壊も生長に遅延に関与していると推測された。

培養試験 A（倉岳 C、倉 A3A、倉 A3C） 21 日後の葉長は 18℃区で平均 2.8～4.3 mm、24℃→18℃区（以下 高水温区）で平均 2.1～4.0 mm（図 1-5-3）となった。葉状体に生じたくびれ数

は、18℃では1個体あたり平均0.3～0.6と少なかった。高水温区では、高水温による障害により葉状体を横断する形での多層化部分（図1-5-4）がかなり見られた。くびれ数での比較が困難であると考えられた。そのため、多層化部の長さおよび葉長に占める比率で比較した。

多層化部の長さは、倉岳野生、倉岳C、倉A3A、倉A3Cでそれぞれ平均4.2mm、1.3mm、1.8mm、2.7mmとなり（図1-5-5）、対照の倉岳野生と比較して他の3株は低い値となった。多層化部の長さが葉長に占める比率では、倉岳野生の高水温区での葉長が小さい（図1-5-3）ため、差がさらに明瞭となった（図1-5-6）。

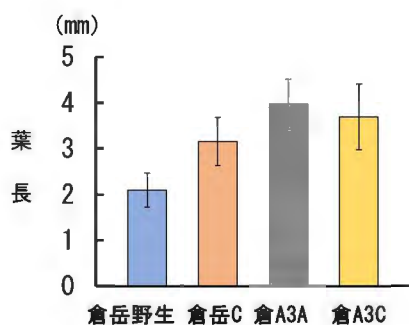


図1-5-3 高水温区の葉状体の葉長（培養試験A）
バーSD

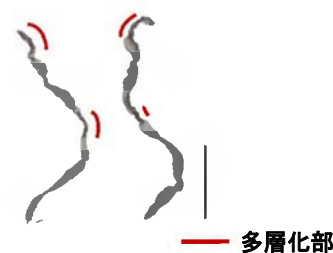


図1-5-4 高水温培養で生じた多層化部
高水温区、倉A3C.
スケール 1mm.

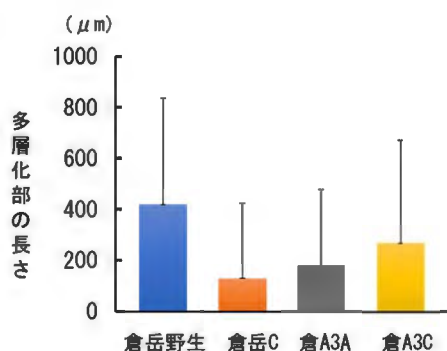


図1-5-5 多層化部の長さ
（1個体あたりの平均値）バーSD

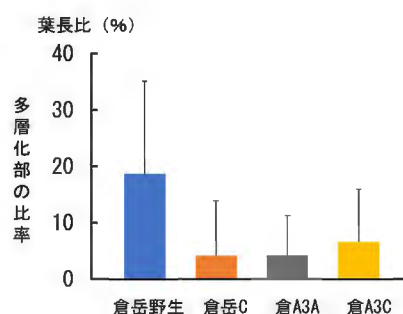


図1-5-6 多層化部の長さが葉長に占める比率
（1個体あたりの平均値）バーSD

培養試験B（倉岳C、倉岳C1、倉A3B） 21日後の葉長は18℃区で平均3.1～4.1mm、高水温区で平均平均2.5～3.5mm（図1-5-7）となった。培養試験Aほどではないが、倉岳野生の葉長が小さかった。葉状体に生じたくびれ数は、18℃区では1個体あたり平均0.5～0.7と少なかった。高水温区では、倉岳野生、倉岳C、倉岳C1、倉A3Bそれぞれ平均3.5、2.2、1.7、2.5となり、倉岳野生が多く、倉岳C1が最も少なかった（図1-5-8）。

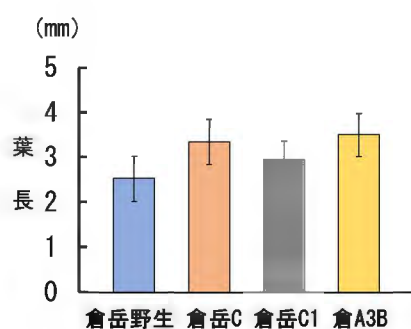


図 1-5-7 高水温区の葉状体の葉長（培養試験 B）
バーSD

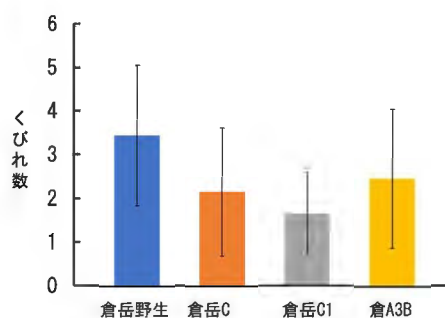


図 1-5-8 高水温培養でのくびれ数
(1個体あたり) バーSD

今回の結果では、対照の倉岳野生と比較して他の株の障害の程度が小さく、選抜によりある程度の高水温耐性獲得しているのではないかと推測された。2年度の結果では、倉 A3（倉 A3A 等の母株）は倉岳 C と同程度のくびれ数であったが、今回さらに高水温選抜を行った倉 A3A、倉 A3B、倉 A3C では、倉岳 C を上回る良好な結果はみられなかった。一方、同様な手法で倉岳 C を再選抜した倉岳 C1 には、高水温耐性が向上している可能性があり、さらに検討を進めていくことが望まれる。

（２）育成株等の成分調査

（i）派生株等

18℃で室内培養した女川スサビ選抜株女 D 葉状体の遊離アミノ酸含量を分析し、同様の条件で培養した女川スサビおよび対照品種の U-51 葉状体と比較した。遊離アミノ酸の分析結果を図 1-5-9 に示した。選抜株女 D の遊離アミノ酸含量は元株の女川スサビより少なく対照の U-51 と同程度であった。高水温条件での選抜により遊離アミノ酸含量が低下している可能性が考えられるが、U-51 と同程度であり実用的には大きな問題は生じていないと考えられる。

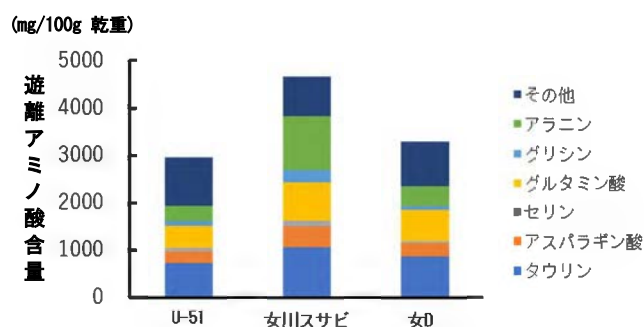


図 1-5-9 室内培養葉状体の遊離アミノ酸含

（ii）育種素材等

葉状体の採取は、愛知県、岡山県、福岡県では 11 月下旬から 12 月上旬に行った。熊本県では令和 2 年度は 12 月 25 日と 2 月 22 日、令和 3 年度は 12 月 14 日に行った。

遊離アミノ酸の分析結果を図 1-5-10（令和 2 年度、3 年度）に示した。愛知県の遊離アミノ酸含量が両年度とも少なくなっているのは、摘採期に栄養塩濃度の低下がみられてことが関係していると考えられる。

野外養殖試験のうち愛知県の結果では、育種素材 6C、愛知県再選抜株 6C 愛知、愛知県交雑株 4C シゲカズの遊離アミノ酸含量は対照の U-51 と同程度であった。福岡県の結果では、育種素材 6C、福岡県再選抜株 6C-1、6C-2 の遊離アミノ酸含量は、対照の U-51 と比較して 2 年度は同程度～若干上回れ程度、3 年度は若干下回る程度であった。岡山県の結果では、育種素材 6C、元株のアオクビ、岡山県再選抜株 4C-5、4C-6、一般養殖種 B の遊離アミノ酸含量は対照の U-51 と同程度であった。これらのことから、4C、4C-5、4C-6、6C、6C 愛知、4C シゲカズ、6C-1、6C-2 では、対照の U-51 とおおむね同程度の遊離アミノ酸含量であり、選抜による遊離アミノ酸含量の変化は問題とならない程度であると考えられる。

熊本県での野外培養試験の結果では、令和 2 年度の 2 月と令和 3 年度は、対照の U-51 の遊離アミノ酸含量がやや高かった。令和 3 年度は岡山県と福岡県でも、U-51 の遊離アミノ酸含量が若干高めで、グルタミン酸の割合が高くなる傾向がみられた。令和 3 年度は 2 年度より水温が低めの傾向であったが、令和 3 年度の熊本県採取日が 2 年度の 1 回目より 11 日早く高めの水温であり、原因は不明である。熊本県での 3 回の結果を通して、育種素材 4C、選抜株女 D、熊本県育成品種 AH の遊離アミノ酸含量はほぼ同程度であり、愛知県、岡山県、福岡県の結果を考慮すると、選抜による遊離アミノ酸含量の変化は問題とならない程度であると考えられる。

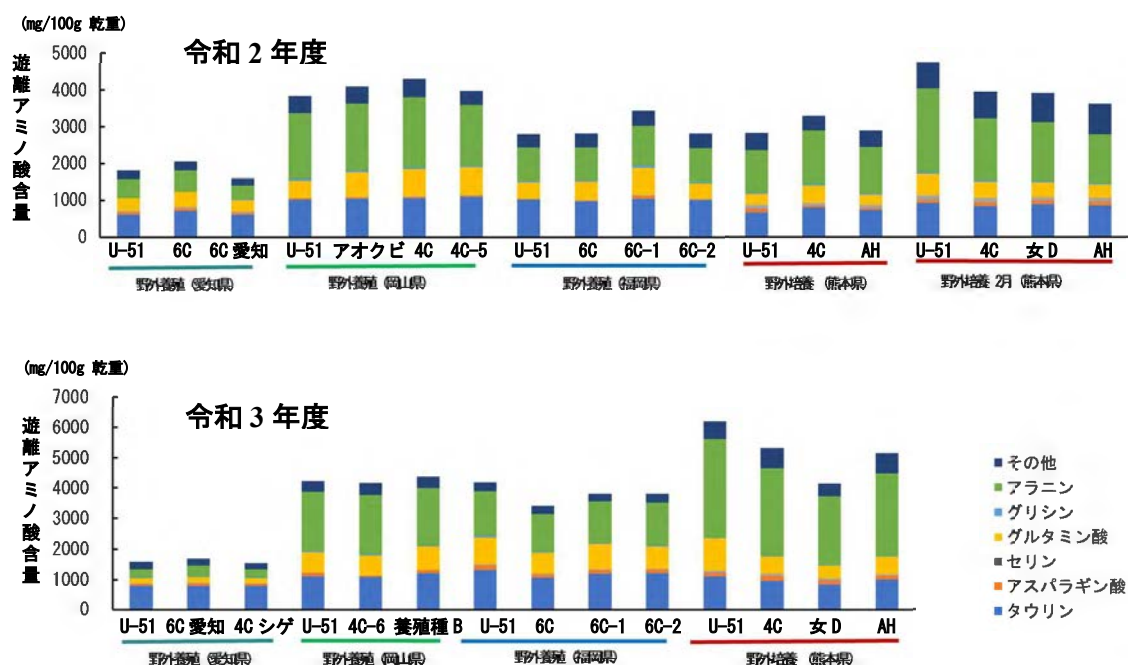


図 1-5-10 野外養殖および野外培養葉状体の遊離アミノ酸含量

4C シゲ：4C シゲカズ、養殖種 B：一般養殖種 B、女 D：女川 D.

【4 カ年のまとめ】

（１）派生株等の高水温耐性調査

材料には、技会プロ研において、スサビノリ高水温耐性育種素材の育成過程で生じた未調査の派生株（元株：アオクビ）と技会プロ研と同様な手法でスサビノリ養殖品種女川スサビから育成した株、およびアサクサノリから選抜した株を用いた。アオクビから選抜した 4A と 4E、女川スサビから選抜した女 A と女 D の育成法を図 1-5-11 に示した。4A と 4E の実験では、育種素材 4C も比較のために用いた。

方法は令和 3 年度と同様な手法で行い、24℃の高水温で 14 日間、続いて 18℃（適水温）で 7 日間、計 21 日間枝付きフラスコを用いて通気培養し、生長した葉状体にみられる高水温障害により生じた組織の多層化によるくびれ数の増加を調べた。

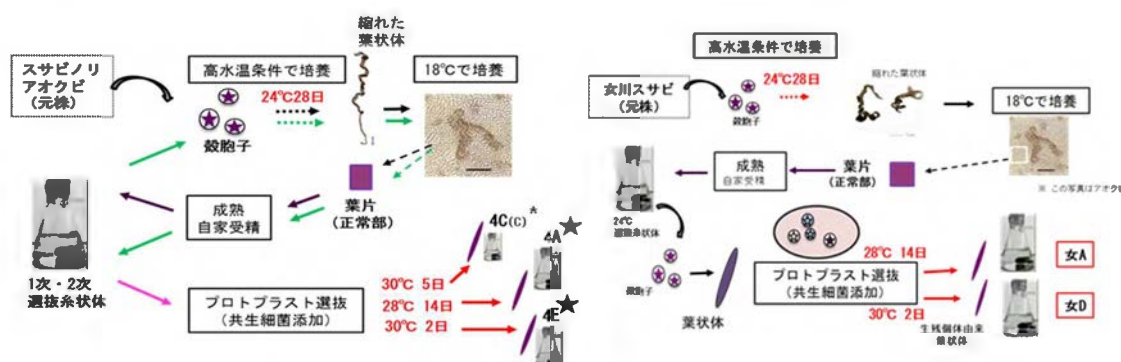


図 1-5-11 派生株等の育成法の概要

派生株等 4A, 4E, 女 A, 女 D ; 育種素材 4C（他課題でも使用）

（）内は農林水産技術会議報告書での名称

4A と 4E の結果を図 1-5-12 左に示した。選抜株の 4A と 4E ではくびれ数はアオクビより少なかった。4A と 4E は高水温による障害がアオクビより小さいと考えられ、選抜による高水温耐性の向上が示唆された。育種素材 4C とくびれ数を比べた場合は、4A は同程度で 4E はやや多い結果（図 1-5-12 左）となった。今回の結果では、4A と 4E に高水温耐性が向上する傾向はみられたが、育種素材 4C を上回るほどの耐性の向上は確認できなかった。女 A、女 D の結果を（図 1-5-12 右）に示した。くびれ数が元株の女川スサビより少なく、障害の程度が軽減されていると推測され、選抜によりある程度高水温耐性が向上していると考えられる。アサクサノリについては、スサビノリほど明瞭ではないが、高水温耐性が向上する傾向がみられた。

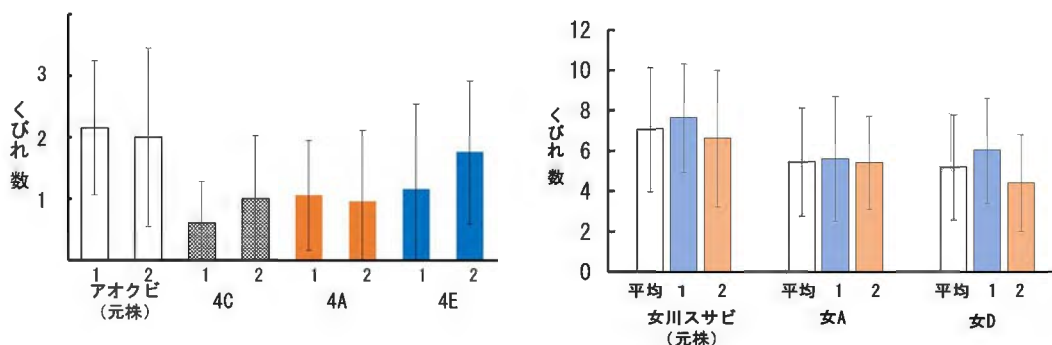


図 1-5-12 高水温培養でのくびれ数（1 個体あたり）

(2) 育成株等の成分調査

材料には、野外養殖試験および野外培養試験で栽培された葉状体を中心に、一部室内培養した葉状体も用いた。野外養殖分は岡山県農林水産総合センター水産研究所、福岡県水産海洋技術センター有明海研究所、愛知県水産試験場漁業生産研究所から、野外培養分は熊本県水産研究センターから葉状体の分譲を受けた。室内培養は水産技術研究所で行った。

育種素材の 4C と 6C はスサビノリ養殖品種アオクビからの選抜株で、女川 D はスサビノリ養殖品種女川からの選抜株（派生株等）である。また、4C-5 は生長を考慮し岡山県水産研究所が 4C から再選抜した株である。

遊離アミノ酸の抽出と分析は、Noda *et al.* (1975) および玉城ら (2014) に準じておこなった。アミノ酸の分析はニンヒドリン法を用いて全自動アミノ酸分析装置日本電子 JLC-500/V または日立 L-8900 型で行った。

(i) 派生株等

平成 31 年度の結果で、高水温耐性の向上がみられた女 D (女川 D) の遊離アミノ酸含量を調べ、元株等と比較した。材料は 18℃で室内培養した葉状体を用いた。その他の培養条件は、令和 3 年度の葉状体の室内培養実験と同様である。

遊離アミノ酸の分析結果を図 1-5-13 (図 1-5-9 と同じ) に示した。選抜株女 D の遊離アミノ酸含量は元株の女川スサビより少なく対照の U-51 と同程度であった。高水温条件での選抜により遊離アミノ酸含量が低下している可能性が考えられるが、U-51 と同程度であり実用的には大きな問題は生じていないと考えられる。

(ii) 育種素材等

令和 2 年度の岡山県での野外養殖試験と平成 31 年度の熊本県での野外培養試験の遊離アミノ酸の分析結果を図 1-5-14 に示した。野外養殖試験では育種素材 4C および再選抜株 4C-5 は元株のアオクビおよび対照品種の U-51 と同程度遊離アミノ酸含量であり、野外培養試験では育種素材の 4C はアオクビおよび U-51 と同程度、6C はやや多いという結果になった。高水温選抜による遊離アミノ酸含量に対する悪影響は生じていないと考えられる。

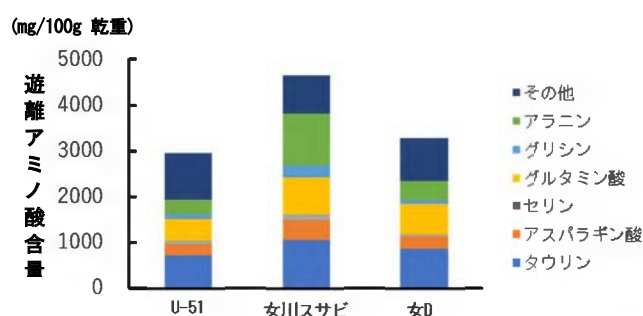


図 1-5-13 室内培養葉状体の遊離アミノ酸含量

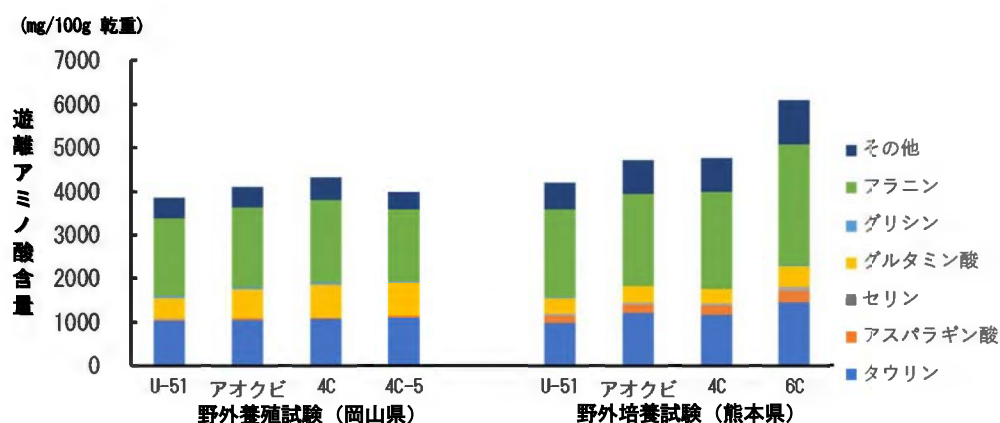


図 1-5-14 野外養殖および野外培養葉状体の遊離アミノ酸含量

【参考文献】

- 藤吉栄次・玉城泉也・小林正裕（2019a）プロトプラスト選抜技術の安定化と高水温負荷による選抜技術の開発.「平成 29 年度委託プロジェクト研究 農林水産分野における気候変動対応のための研究開発最終年度報告書 温暖化の進行に適応するノリ育種技術の開発」, 12-17. 農林水産技術会議.
- 藤吉栄次・玉城泉也・小林正裕・中川雅弘（2019b）プロトプラスト選抜株への共生細菌添加等による高水温耐性ノリ育種素材の開発.「平成 29 年度委託プロジェクト研究 農林水産分野における気候変動対応のための研究開発最終年度報告書 温暖化の進行に適応するノリ育種技術の開発」, 18-25. 農林水産技術会議.
- 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.
- 玉城泉也・藤吉栄次・柿沼誠・小林正裕（2014）遊離アミノ酸含量.「アマノリ養殖品種の特性」, 46-50. 独立行政法人水産総合研究センター西海区水産研究所.
- 藤吉栄次・小林正裕・有瀧真人 編（2014）柿沼誠・小林正裕（2014）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, 145pp.

【事業推進上の問題点】

共生細菌等の影響を解明し、室内培養実験の結果が安定することが望まれる。

【成果の公表】 なし

