

アマノリ類葉体および糸状体のアイソザイムについて

増田恵一^{*1}・谷田圭亮^{*1*2}Isozyme from Individual Fronds and Conchocelis of *Porphyra* SpeciesKeiichi MASUDA^{*1} and Keisuke TANIDA^{*1*2}

アマノリ類の単相世代である葉体のアイソザイムについては多くの報告^{1)~5)}があり、種間の遺伝的類縁関係等が把握されている。しかし養殖ノリの品種保存に用いられる複相世代の糸状体についてはアイソザイムが分析された例はない。

著者等は、アマノリ類数種の葉体のアイソザイムについて種間の差を検討し、また葉体から放出された果胞子より発生した糸状体のアイソザイムを分析し、種間交雑

におけるマーカーとして利用できると考えられたので、ここに報告する。

材料と方法

第1表および第2表に示した、アマノリ類葉体および水産試験場内で保存しているアマノリ類フリー糸状体のアイソザイム遺伝子に、変異があるかどうかの確認を

第1表 アイソザイム分析に供した天然アマノリおよび養殖ノリ葉体

No.	種	葉長(mm)	葉幅(mm)	性	採集場所
1	ウップルイノリ	185	46	雄	香住町地先
2	ウップルイノリ	154	24	雄	香住町地先
3	ウップルイノリ	86	40	雌	香住町地先
4	ウップルイノリ	182	56	雌	香住町地先
5	アサクサノリ	234	88	雌雄同株	明石浦漁場
6	アサクサノリ	228	155	雌雄同株	明石浦漁場
7	スサビノリ	425	126	雌雄同株	明石浦漁場
8	スサビノリ	407	87	雌雄同株	明石浦漁場

第2表 アイソザイム分析に供したアマノリ類糸状体の由来

種名	No.	由来	採集場所(漁場)
ツクシマノリ	0101	天然アマノリ	島根県桂島
クロノリ	0102	天然アマノリ	鳥取県泊
ウツノリ	0103	天然アマノリ	兵庫県香住町
マホノリ	0104	天然アマノリ	鳥取県泊
ヒノノリ	0105	天然アマノリ	島根県桂島
スサビノリ	0108	養殖葉体	区8(明石浦漁場)
スサビノリ	0110	ブトブト培養系	区8(明石浦漁場)
ツクシマノリ	0113	養殖葉体	区8(明石浦漁場)
スサビノリ	0114	ブトブト培養系、緑色変異体	室内培養葉体
スサビノリ	0119	養殖葉体(ナラシスサビノリ)	区8(明石浦漁場)
スサビノリ	0120	ブトブト培養系	室内培養葉体

*1 兵庫県立水産試験場(Hyogo Prefectural Fisheries Experimental Station, Minami-Futami, Akashi 674)

*2 現所属: 兵庫県保健環境部環境局水質課 (Water Quality Division, Environment Bureau, Public Health and Environment Department Hyogo Prefectural Government, Tyuouku, Kobe 650)

行った。葉体からの酵素の抽出は原他³⁾の報告に準じて行ったが、ホモジナイズ用の溶液として2Mのショ糖溶液を用いた。糸状体からの酵素の抽出は、フリー糸状体の水分を、ペーパータオルで十分に取除いた後、葉体で用いた方法と同様に行った。

アイソザイムは水平式デンプンゲル電気泳動法(ゲル濃度12%、通電量はゲル断面1cm²当たり3mA、泳動時間3時間)によって検出した。泳動用緩衝液としてクエン酸-トリスバッファー(C-T 7.0)を用いた。検出を試みた酵素は、葉体についてはグルコースリン酸イソメラーゼ(GPI)、マンノースリン酸イソメラーゼ(MPI)、グルタミン酸脱水素酵素(GDH)、ディアホラーゼ(DIA)およびカタラーゼ(CAT)、糸状体についてはGPI、DIA、およびGDHとした。染色法は原他³⁾の報告に準じて行った。

第1表で示した葉体の成熟部分を用い、放出される果胞子から発生する糸状体1個体ずつについてアイソザイム分析を行った。交雑糸状体の作出を目的とし、第1表に示した葉体のうち、No.1と6、No.1と8、No.4と6およびNo.4と8の成熟部分から栄養細胞にかけての葉片を、それぞれ同一のSWM-III改変培地^{4),7)}(肝臓エキス、土壌抽出液、ビタミン類を除く)を入れたシャーレに入れ、20°C、14L-10D、2000lxの条件で果胞子の放出を促進した。放出された果胞子から発生した糸状体を、1個体ずつ分離し、SWM-III改変培地を2mlずつ入れた24穴マルチウェルプレート(CORNING社製)内で培養した。糸状体の生長にともないSWM-III改変培地を入れた50mlフラスコに移植し、培地内で直径約1cmになるまで培養して、アイソザイム分析に供した。培養条件はいずれの場合も、20°C、14L-10D、2000lxとした。アイソザイム分析の方法は前記と同様に行った。

結果

葉体のアイソザイム泳動像と泳動模式図を第1図に示した。GDHでは各サンプルごとに2本のバンドが認められたが、他の酵素では1本ずつのバンドが認められた。GPIではウップルイノリと養殖品種のスサビノリおよびアサクサノリの間に同時の泳動で明瞭なバンド位置のず

れが認められ、遺伝子座の分岐が確認できた。MPIおよびDIAでは、サンプルごとに、明瞭なバンド位置のずれは認められなかった。

糸状体のアイソザイム泳動像と泳動模式図を第2図に示した。GPIとGDHではそれぞれのサンプルで1本ずつバンドが認められ、DIAでは2本のバンドが認められた。GPIでは明瞭な3種の遺伝子座の分岐が認められ、第2図に示すとおり、ウップルイノリおよびオニアマノリの遺伝子型はAA、ツクシアマノリ、クロノリおよびマルバアマノリの遺伝子型はBB、養殖品種であるアサクサノリおよびスサビノリの遺伝子型はCCであると推定できた。

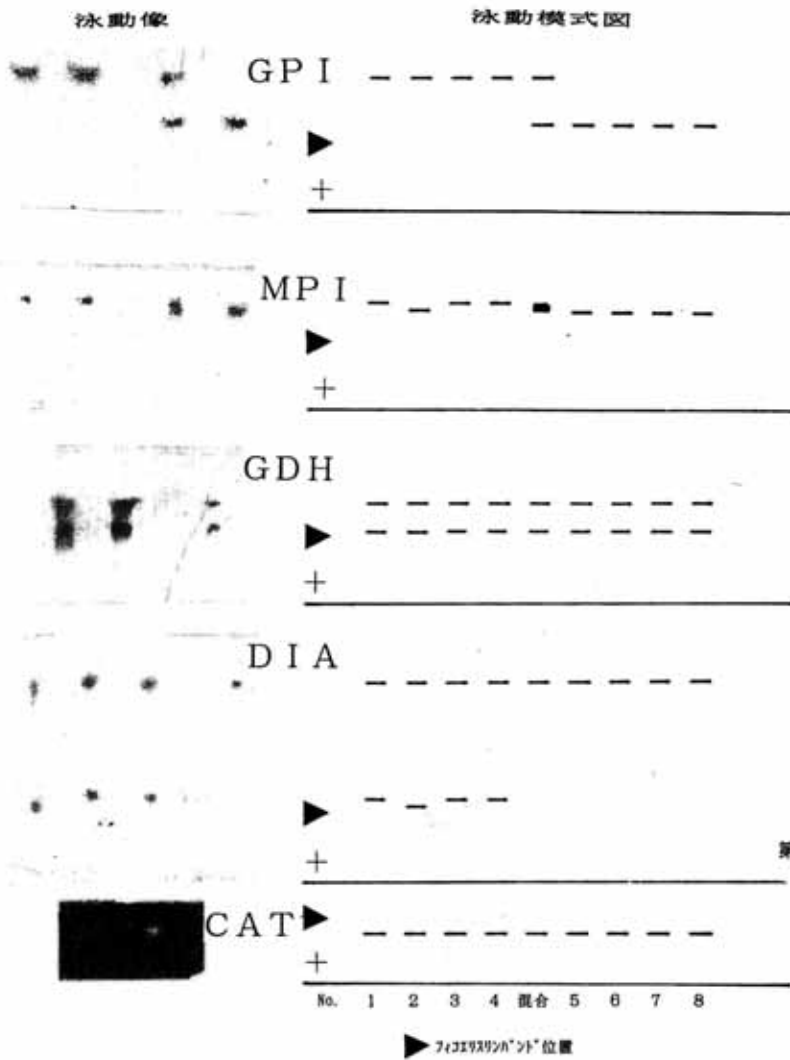
第1図で変異が認められた葉体から放出された果胞子より発生した糸状体の、1個体ごとのGPIアイソザイムの泳動像と泳動模式図を第3図に、また供試糸状体の遺伝子型別内訳を第3表に示した。比較のために両親として用いた葉体を混合したサンプルのGPIアイソザイムも同時に検出した。糸状体のバンドはすべて1本ずつであり、そのバンド位置は、両親のいずれかのバンド位置と一致していた。

考察

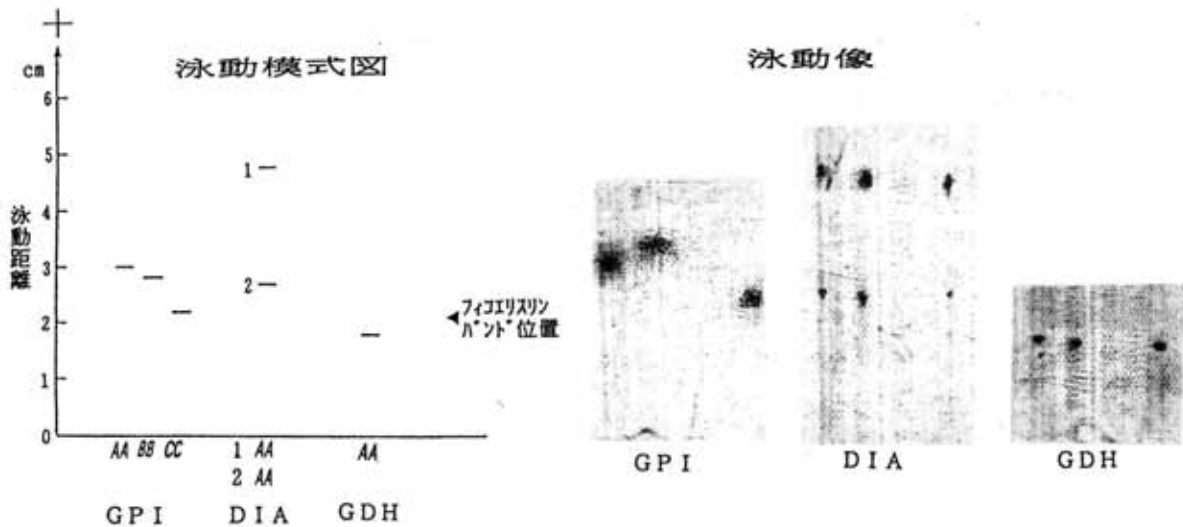
葉体のGPI遺伝子座の分岐については原他³⁾の報告でも述べられているが、本報で認められた分岐も、葉体色素のフィコエリスリンのバンド位置とGPIバンドの位置関係から判断する限り、原他³⁾の報告と一致するものと考えられた。糸状体のアイソザイムでは、種間では変異が認められたが、養殖品種間では変異が認められず、養殖品種の判別基準としてアイソザイムを用いるのは難しいと考えられた。

交雑糸状体の泳動像は、両親のバンドと同位置の2本を含む2本以上のバンドからなると推察されるが、本報では、そのような泳動像はどの個体でも見られなかった。

一般にウップルイノリの糸状体は赤く、スサビノリやアサクサノリの養殖品種の糸状体は、茶色か褐色である。GPIアイソザイムの泳動像がウップルイノリと同じであった糸状体はすべて赤く、スサビノリまたはアサクサノリの養殖品種と同じであった糸状体は、すべて褐色であ

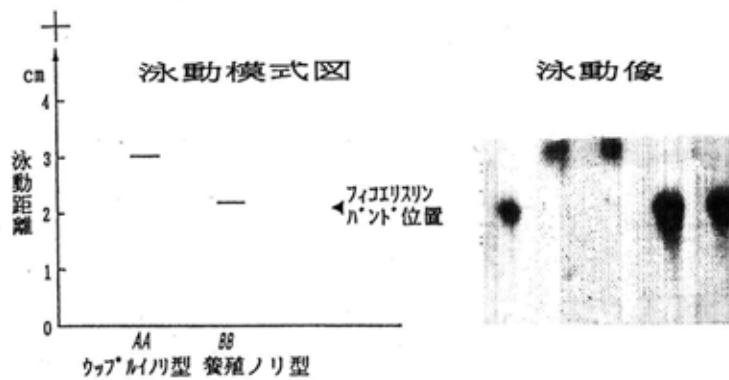


第1図 天然アマノリ (ウップルイノリ) および養殖ノリ養体のアイソザイム泳動像および模式図
注) 図中のNo. は第1表のNo. と同じ。「混合」は全サンプルの混合サンプルを示す。



第2図 糸状体のアイソザイム泳動像および模式図

注 1) GPIのAAはウップルイノリおよびオニアマノリ、BBはツクシアマノリ、クロノリおよびマルバアマノリ、CCはアサクサノリおよびスサビノリの遺伝子型である。
注 2) DIAの1、2は遺伝子座が異なる。



第3図 天然アマノリ（ウップルイノリ）と養殖ノリ葉体の果胞子から発生した糸状体のGPIアイソザイム泳動像および模式図

第3表 供試糸状体の遺伝子型別内訳

両親*	遺伝子型	糸状体数	アイソザイム分析番号 No.
1×6	養殖ノリ型(BB)	11	11-15, 37-42
	ウップルイノリ型(AA)	0	
	交雑型(AB)	0	
1×8	養殖ノリ型(BB)	14	16-20, 43-51
	ウップルイノリ型(AA)	0	
	交雑型(AB)	0	
4×6	養殖ノリ型(BB)	12	1, 2, 23, 24, 27, 28, 53, 54, 56-58, 72
	ウップルイノリ型(AA)	11	3-5, 21, 22, 25, 34, 55, 59, 60, 71
	交雑型(AB)	0	
4×8	養殖ノリ型(BB)	5	9, 10, 32, 36, 62
	ウップルイノリ型(AA)	17	6-8, 29-31, 33, 35, 61, 63-70
	交雑型(AB)	0	

* 第1表におけるNo.を示す。

った。またウップルイノリを父親として用いた場合、得られた糸状体のGPIアイソザイム泳動像および色彩は、すべて養殖品種と一致していたが、ウップルイノリを母親として用いた場合、得られた糸状体のGPIアイソザイム泳動像および色彩は、養殖品種と一致するものと、ウップルイノリと一致するものの両者があった。

これらのことから、本報で得られた糸状体はいずれも同一個体内で自殖したか、試験に供する前に、同種他個体の精子と受精することによって放出された果胞子に由来し、交雑糸状体は得られなかったと考えられた。

アマノリ類の種間交雑については三浦他⁹⁾の報告があるが、交雑の確認手法として、色素変異体を用いている。このたびの試験では、種間交雑糸状体は得られなかったが、糸状体のGPIアイソザイム泳動像は、両親として用いた葉体のいずれかの泳動像と一致していた。このた

めGPIアイソザイムを用いれば、色素変異体を用いなくても種間交雑の確認ができると考えられた。

要約

- 1) アマノリ類葉体および糸状体のアイソザイム分析を行った結果、GPIアイソザイムで遺伝子座の分岐が認められた。
- 2) 糸状体のGPIアイソザイムでは、AA, BB, CCの3つの遺伝子型が認められ、ウップルイノリおよびオニアマノリではAA、ツクシアマノリ、クロノリおよびマルバアマノリではBB、養殖品種であるアサクサノリおよびスサビノリではCCであった。
- 3) 天然産のウップルイノリと養殖品種であるスサビノリまたはアサクサノリの成熟葉体を両親として、糸

状体を作成したが、GPIアイソザイムの泳動像はいずれかの両親の葉体の泳動像と一致しており、種間交雑糸状体は得られなかった。

- 4) 葉体と糸状体とでGPIアイソザイムの泳動像が一致しているため、GPIアイソザイムは今後種間交雑の確認に利用できると考えられた。

文献

- 1) 三浦和歌子・藤尾芳久・須藤俊造：ノリ葉体のアイソザイムについて, *Jap. J. Phycol.*, 26, 139-143, (1978).
- 2) W. Miura, Y. Fujio and S. Suto : Genetic differentiation between the wild and cultured population of *Porphyra Yezoensis*, *Tohoku J. Agr. Res.*, 30, (3), 114-125, (1979).
- 3) 三浦和歌子・藤尾芳久・須藤俊造：スサビノリのアイソザイム遺伝子の連鎖, *水産育種*, (5), 18-21, (1980).
- 4) 原素之・マルシア百合子田中・藤尾芳久：スサビノリの新しいアイソザイム遺伝子の連鎖, *水産育種*, (11), 25-28, (1986).
- 5) 原素之・藤尾芳久：野生スサビノリのアイソザイム, *昭和60年度東北ブロック増養殖研究連絡会議報告書*, 21-25, (1986).
- 6) 尾形英二：新しい海藻培養液 SWM-III について, *藻類*, 18, 171-173, (1970).
- 7) (社)日本水産資源保護協会：昭和55年度種苗特性分類調査報告書, (社)日本水産資源保護協会, 東京, (1981).
- 8) 三浦昭雄・符鵬飛・申宗岩：紅藻スサビノリとアサクサノリの色素変異体による種間交雑実験, *東京水産大研報*, 79, (1), 103-120, (1992).