

# アサクサノリ製品の品質管理・評価のための技術開発

岩出将英・林茂幸・羽生和弘・柿沼誠\*  
(\*三重大学大学院 生物資源学研究所)

## 目的

本県では、平成 25 年度漁期よりアサクサノリ養殖の取組みを開始している。

アサクサノリ養殖には、スサビノリ養殖と同様の養殖設備が適用できるが、両種は育苗段階で葉状体の一部から単胞子を放出する生長特性を有するため、アサクサノリとスサビノリを同漁場で混養殖した場合、両種の単胞子がそれぞれの養殖網に付着することにより、アサクサノリ漁場から生産される板ノリ製品にスサビノリが混入してしまうことが懸念される。

そこで本研究では、アサクサノリ製品の品質向上にかかる技術開発を目標として、スサビノリとアサクサノリの単胞子放出に関する生長特性の把握と、アサクサノリ漁場から生産される板ノリ製品中のアサクサノリ含量を簡易に測定できる品質管理・評価のための DNA 検査技術の開発に取り組む。

## 方法

### 1. アサクサノリおよびスサビノリの生長特性評価と各葉状体の培養調製

アサクサノリ (MA-1) , スサビノリ基準品種 (U51) , 一般養殖網由来スサビノリ (MIX) 葉状体の室内培養試験を実施し、幼芽期の単胞子放出能を指標に生長特性を評価した。また、DNA 塩基配列解析に用いる全 DNA の調製に必要な各葉状体を室内培養により大量調製した。

### 2. アサクサノリおよびスサビノリ特異的なゲノム DNA 領域の特定

核 DNA の 18S rRNA 遺伝子や ITS 領域、葉緑体 DNA の RubiscoL/S 遺伝子やそのスペーサー領域、ミトコンドリア DNA の ATP6 遺伝子や COX1 遺伝子に注目し、DNA 塩基配列情報 (国際塩基配列データベース: INSD) からアサクサノリおよびスサビノリの DNA 塩基配列データを抽出し、両種間で塩基配列が大きく異なる DNA 領域 (標的 DNA 領域) を特定すると共に、各標的 DNA 領域を増幅するためのプライマーセットを設計した。

次に、MA-1, U51 および MIX 葉状体から抽出・精製した全 DNA を鋳型とし、設計したプライマーセットを用いた PCR により、MA-1, U51 および MIX の各標的 DNA 領域を増幅した。増幅 DNA をクローン化後に塩基配列を決定し、MA-1, U51 および MIX の間で標的 DNA 領域の塩基配列を比較して、アサクサノリおよびスサビノリで塩基配

列が大きく異なる DNA 領域 (特異的 DNA 領域) を特定した。

### 3. リアルタイム PCR プライマー・プローブセットの設計と検証

特異的 DNA 領域の塩基配列情報を基に、アサクサノリおよびスサビノリを DNA レベルで特異的に検出・定量するためのプライマー・プローブセットを設計した。

## 結果および考察

U51 および MA-1 の幼芽期における生長特性を把握するため、様々な培養開始水温区 (15~23°C) を設定し、ビニロン単糸に採苗した両種の殻胞子を 7 日間で 1°C ずつの割合で水温降下させながら室内培養を行った。U51 では、全ての水温区において葉長 2cm 程度まではほとんど単胞子の放出が確認されなかった。MA-1 では、23°C から培養を開始した試験区において葉長 200  $\mu$ m 程度 (培養後 7 日~10 日後) から大量の単胞子の放出が確認されビニロン単糸上での生育密度が高くなり、生長が著しく鈍化した。一方、19°C から培養を開始した試験区では葉長 200  $\mu$ m 程度から単胞子の放出が確認されたが、23°C 区に比べて放出量は有意に少なく、その後の葉状体の生長も良いことが明らかとなった。以上のことから、漁場におけるアサクサノリ養殖は、スサビノリ養殖が開始される時期 (平均海水温が 23°C 以下) に比べ 3~4°C 程度低い海況から開始することが適していると考えられた。

MA-1 およびスサビノリのミトコンドリア DNA (mtDNA) 領域の塩基配列の同一率は約 8~94% であり、MA-1 およびスサビノリの mtDNA の塩基配列情報を基に両種間で差の認められる 4 領域を選定し、各領域を増幅するプライマーセットを作製した。これら mtDNA 領域由来の増幅 DNA 断片長の差異により、アサクサノリとスサビノリの種判別が可能となった。今後は、設計したプライマー・プローブセットを用いて両種 DNA に対する特異性および定量性の検証および全 DNA を鋳型としたリアルタイム PCR 解析を行う必要がある。

本研究は、一般財団法人海苔増殖振興会の平成 26 年度海苔養殖の長期的・基礎的な研究に関する研究助成により行われた。