

リボゾーム RNA 遺伝子と RAPD に基づくラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* の分子識別

吉川 毅・早川法子・坂田泰造（鹿大水）

【目的】ラフィド藻 *Heterosigma akashiwo* は赤潮原因藻類の一種であり、養殖魚分類の大量斃死を誘発して多大な漁業被害を与えている。加えて本藻は、近年広域化が顕著であり、その対策が急がれている。本研究では、本藻の広域化メカニズムの解明を目的として、核、葉緑体ゲノム DNA にコードされているリボゾーム RNA 遺伝子 (rDNA)、あるいは RAPD を指標とした *H. akashiwo* の個体群解析を試みた。

【方法】*H. akashiwo* 鹿児島湾産株 (Ho, Hy)、五ヶ所湾産株 (NIES-5)、大阪湾産株 (NIES-6)、計 4 株の培養細胞から CTAB 法により DNA を抽出した。これを鋳型に、核ゲノムにコードされているリボゾーム小サブユニット RNA 遺伝子 (SSU rDNA)、大サブユニット RNA 遺伝子 (LSU rDNA)、並びに葉緑体ゲノムにコードされている SSU rDNA を PCR により増幅し、その塩基配列を決定した。得られた塩基配列を多重整列に供した後、近隣結合法により分子系統樹を作成した。また、コモンプライマー A70, A71 (Bex) を用いて PCR を行った後、増幅産物をアガロースゲル電気泳動に供し、RAPD 解析を行った。

【結果】rDNA の塩基配列に基づく分子系統解析の結果、鹿児島湾産株は NIES-5 株、NIES-6 株と共にラフィド藻類クラスターに属し、*H. akashiwo* (DDBJ アクセッション番号 AB001287) とほぼ同一の配列を持つことが明らかとなった。また、rDNA の塩基配列は株間に差異が認められず、個体群の識別には不適であることが示された。一方、コモンプライマー A70, A71 を用いた RAPD 解析の結果、Ho 株、Hy 株、NIES-6 株からは共通のバンドパターンが得られたものの、NIES-5 株のみ他の株には認められないバンドが確認された。このことから、*H. akashiwo* の個体群識別に RAPD が有効であることが示唆された。

緑藻アオサ類による微細藻の殺藻作用

Raikar S. V. (長大海洋)・鳥居和生 (長大生産)・

北村 等・藤田雄二 (長大水)

【目的】褐藻オキナワモツクや紅藻ビリヒバなどでは赤潮プランクトンを含む微細藻に対する殺藻作用が報告されている。緑藻アナアオサ *Ulva pertusa* でも同様な作用があることが示唆されているが、具体的な検討はなされていない。本研究では、アオサ属の数種について微細藻に対する殺藻作用の有無を調べた。

【方法】長崎県大村湾及び島原市沿岸で採集するか室内で育てたりボンアオサ *U. fasciata*, アナアオサ (野生型

と浮遊型)、ナガアオサ *U. arasaki* 及びオオバアオサ *U. lactuca* を供試した。まず、これらの生葉体片と微細藻 (ラフィド藻 3 種、渦鞭毛藻 1 種、珪藻 2 種、ハプト藻・プラシノ藻各 1 種) との二藻培養による微細藻に対する殺藻作用の有無を調べた。殺藻作用が認められた一部のアオサでは葉体の乾燥粉末及び粉末からのメタノール、水による粗抽出画分について微細藻に対する反応を調べた。

【結果】二藻培養の結果、例外はあるがリボンアオサ、アナアオサ (野生型と浮遊型)、オオバアオサは *Heterosigma akashiwo*, *Olisthodiscus luteus*, *Chattonella marina*, *Gymnodinium mikimotoi* に対して殺藻作用が認められた。しかし、いずれのアオサにも供試した珪藻、ハプト藻、プラシノ藻に対する殺藻作用は認められなかった。上記ラフィド藻、渦鞭毛藻の懸濁液 1 ml 当たりリボンアオサあるいはアナアオサ (浮遊型) の乾燥粉末 0.25 ~ 1 mg を添加した場合、ラフィド藻、渦鞭毛藻は 2 ~ 8 時間以内に死滅した。同様に微細藻懸濁液 1 ml 当たりリボンアオサのメタノール抽出画分 200 µg を添加した場合、上記ラフィド藻、渦鞭毛藻は 6 時間以内に死滅した。リボンアオサの水抽出画分にはこのような殺藻作用は認められなかった。

スサビノリとカイガラアミノリの種間融合再生系統株の光合成色素、遊離アミノ酸含有量及び赤腐れ菌抵抗性

鳥居和生 (長大・生産)・

S. R. Uppalapati (京大・農)・藤田雄二 (長大・水)

【目的】養殖ノリへの赤腐れ病抵抗性形質の導入を目的に作出された種間融合再生系統株の F₁, F₂ 世代葉体について漁場での試験養殖を実施し、産業上の有用株としての可能性を検討する。

【方法】研究室内に保存されていた養殖種スサビノリ (*Porphyra yezoensis* Ueda) T-14 株と、赤腐れ菌抵抗性のカイガラアミノリ (*P. tenuipedalis* Miura) の間で作出された 2 系統の融合株フリー糸状体の貝殻穿孔糸状体から採苗した試験網をノリ漁場に張り込んだ。成長した葉体を採取し、赤腐れ菌 (*Pythium porphyrae*, C-1 株) 遊走子を接種して赤腐れ菌に対する抵抗性試験を行い、産業上重要な形質である成長、光合成色素・遊離アミノ酸含有量を調べ、親株であるスサビノリとそれぞれ比較した。

【結果】赤腐れ菌接種試験の結果、スサビノリと比較して融合系統株は、初期病斑数による抵抗性が認められた。しかし 2 系統いずれも F₁ 世代葉体よりも F₂ 世代葉体の抵抗性は弱かった。融合系統株の成長はスサビノリとほぼ同じであったが、光合成色素量、全遊離アミノ酸含有量は、いずれも融合系統株のほうがやや少なかった。また、遊離アミノ酸のうち主要な呈味成分であるア