

牧場型新漁場整備開発事業

秋元 聡・伊藤 輝昭

筑前海の沿岸域は砂質域が広がり、コンクリート角型魚礁が数多く投入され、漁場造成が行われている。本事業ではこれらの角型魚礁周辺に音響給餌ブイ及び浮魚礁等の浮体構造物を併設することにより、既存漁場の集魚効果の向上を図り、浅海域における漁場整備手法の開発を行うものである。

前年度は対象海域の特性を把握し、魚礁周辺に魚群が分布することを明らかにした。¹⁾ 本年度は音響給餌ブイの集魚効果を中心に調査を実施した。

方 法

1. 試験区の設定

調査対象水域は水深20m程度の遠浅な砂質域である。この水域に2mコンクリート角型魚礁（以下角型魚礁という）が集群している3地区を試験区として選定し、stn.1では音響給餌ブイを、stn.2には浮魚礁区として複数の浮体構造物を設置した。stn.3は既存の角型魚礁のみの配置で対象区とした。stn.2では中心部に角型魚礁が集群し、その南部にFRP性浮魚礁（以下「表層浮魚礁」という）を海面に浮き出るように設置。また、北東部には同型のFRP性浮魚礁を海面下5mに頂上部が位置するように設置（以下「中層浮魚礁」という）。さらに北西部にはカゴ状の構造物のある高さ10mの鋼製魚

礁（以下「着底型中層魚礁」という）を配置した（図1,2）。

これらの魚礁について付着物の付着状況等、設置後の経過について観察した。

2. 魚群量調査

6月22日～6月25日にstn.1音響給餌ブイ区で調査船げんかい、つくしによる定点調査を行った。調査船つくしは音響給餌ブイの間近に停泊し、計量魚探（FQ60、88kHz）によりブイ直下の魚群蜉集状況を把握した。調査船げんかいはブイから100m程度離れた位置に停泊し、スキャニングソナー（CH-34、162kHz）を用い、魚群の分布状況及び魚群規模を調査した。

音響給餌の効果把握するため6月22日、6月25日は音響給餌を作動させず、6月23日、24日は音響給餌ブイを作動させて条件別に魚群量の比較を行った。

3. 潜水調査

各試験区の魚群蜉集状況を把握するため平成10年7月14日、8月21日、11月26日、12月18日、平成11年2月26日の計5回潜水調査を行った。調査は毎回10時～13時の定時に3試験区で潜水し、試験区別に出現魚種、尾数を観察、計数した。観察の際は角型魚礁と浮体構造物を分離せず、一体の物と考え、試験区全体の魚群の蜉



図1 調査対象水域

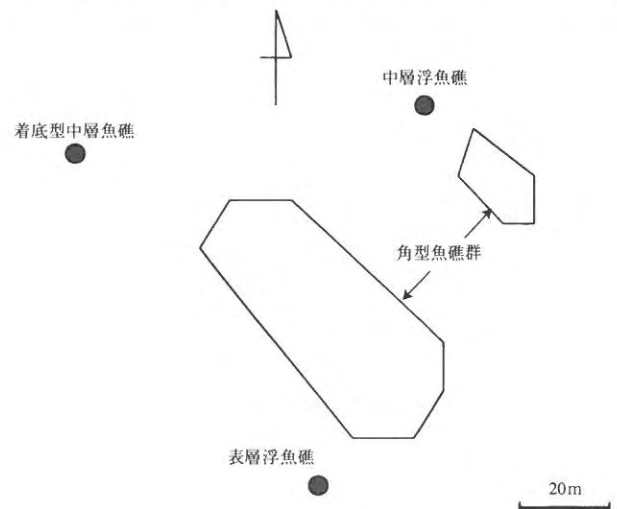


図2 stn.2における魚礁配置

集状況を見た。

なお、本年度の調査のうち魚群量調査は水産大学校²⁾潜水調査は(株)ベントスに委託し、共同調査として行った。

結果及び考察

1. 魚礁設置後の経過

音響給餌ブイは平成6年6月に設置し、9年4月に現在のある場所に移設したが、¹⁾ ³⁾ ブイ海面下部分にはムラサキガイ、フジツボの付着が見られたもののチェーン、コンクリート方塊には異常は見られなかった。

表層浮魚礁は平成9年8月に設置したが、9月中旬の台風時に係留ロープとコンクリート方塊の摩擦によりロープが切断し、海岸に打ち上げられた。その後、係留ロープにブイを取り付け海底と摩擦しないように補強し、11月に再設置した。10年2月の調査では付着物はほとんど見られず、浮体の1/3 (50 cm) 程度が海面に表出していたが、15ヶ月後の11年2月24日にはムラサキガイ、フジツボの付着により設置当初に比べ20cm程度沈降していた。このため、漁船上からの認識が困難で衝突の危険があることから、陸上に引き上げ、付着物を除去し、再設置した。この際、付着物の付着状況を視認したところ海面下に在ったと思われる部分には全面に7cm程の厚さで付着物が見られ、魚礁表面に大型のフジツボが、その間隙にムラサキガイが付着し、量的にはムラサキガイの方が多かった。これらの付着物の量は体積1.4m³、重量160kgと推定された。

中層魚礁は平成10年8月に設置されたが、11年2月時点では目立った異変は見られなかった。

着底型中層魚礁は平成10年10月に設置し、11年2月時点でフジツボ等の付着が若干見られた。

2. 魚群量調査

(1) 魚群の分布特性

計量魚探の結果からは時間帯により魚群が集群、離散を繰り返すものの日周変化等の明確な変化傾向は見られなかった。ソナーによる魚群構造の把握ではアジと思われる魚群の規模を測定すると魚群長5～60mモード10m、魚群高1～15mモード5m程度であった。²⁾ これらのことからアジ魚群の分布特性を推定すると魚群幅10～20m、魚群高5m程度のだ円球状の魚群が複数、魚礁及びブイ周辺を遊泳し、環境条件により集群離散を繰り返すものと考えられる (図3)。

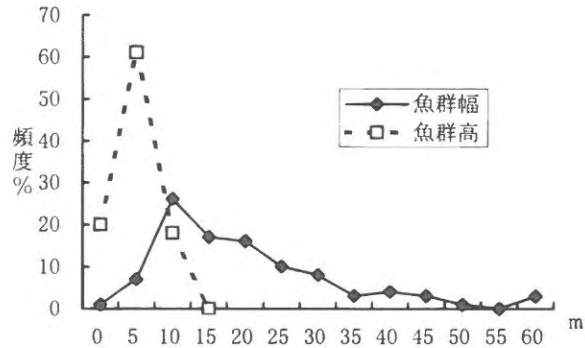


図3 出現魚群の規模

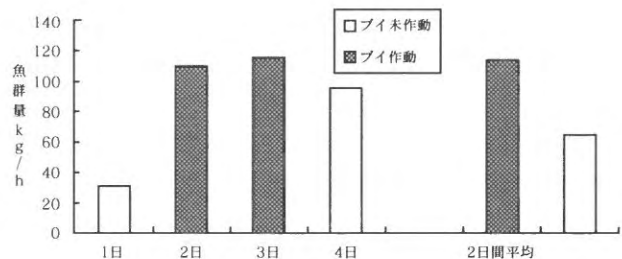


図4 条件別魚群量の比較

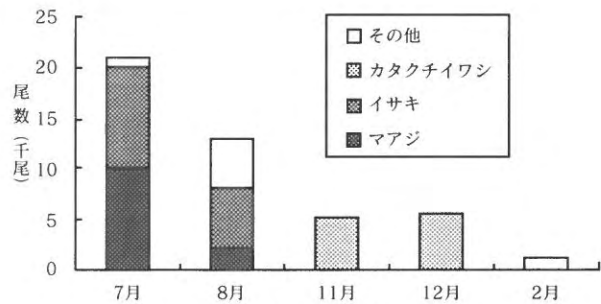


図5 潜水観察による蜆集尾数の変化

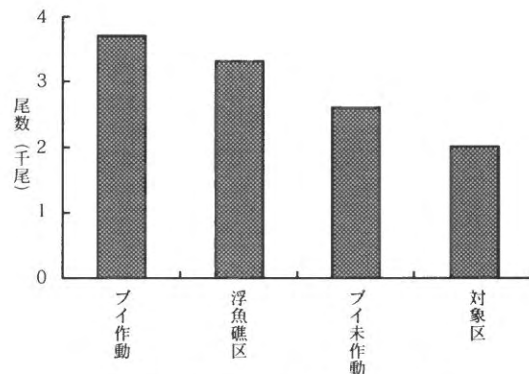


図6 アジの試験区別蜆集尾数の比較

(2) 音響給餌の効果

時間帯による魚群量の変動が大きく、計量魚探の結果の単純比較から音響給餌ブイの効果の判定は困難であったので、日別1時間当たりの魚群量 (kg/h) を算出

し、条件別に比較した。この結果からは音響給餌を行った方が、行わない場合より平均1.7倍（最小1.2～最大3.8倍）程魚群量が多かった（図4）。

3. 潜水調査

（1）魚群の分布特性

魚礁に蛸集する魚群の季節変化傾向は試験区による差はなく、夏季に出現種数、尾数が多く、秋季から冬季に少ない傾向にある。7月の調査ではマアジ、イサキ幼魚を主体に総計40種、20千尾程度の蛸集が見られた。8月には7月同様マアジ、イサキを中心に総計49種、約15千尾が見られた。11月、12月は出現種数、尾数とも減少し、カタクチイワシが優占種で11月は32種、約5千尾、12月は36種、約5千尾が観察された。2月の調査ではさらに種数、尾数が減少し、出現種数11種、尾数は100尾以下でマアジは見られず、スズキ、クロダイ等が分布する程度であった（図5）。

（2）試験区間の比較

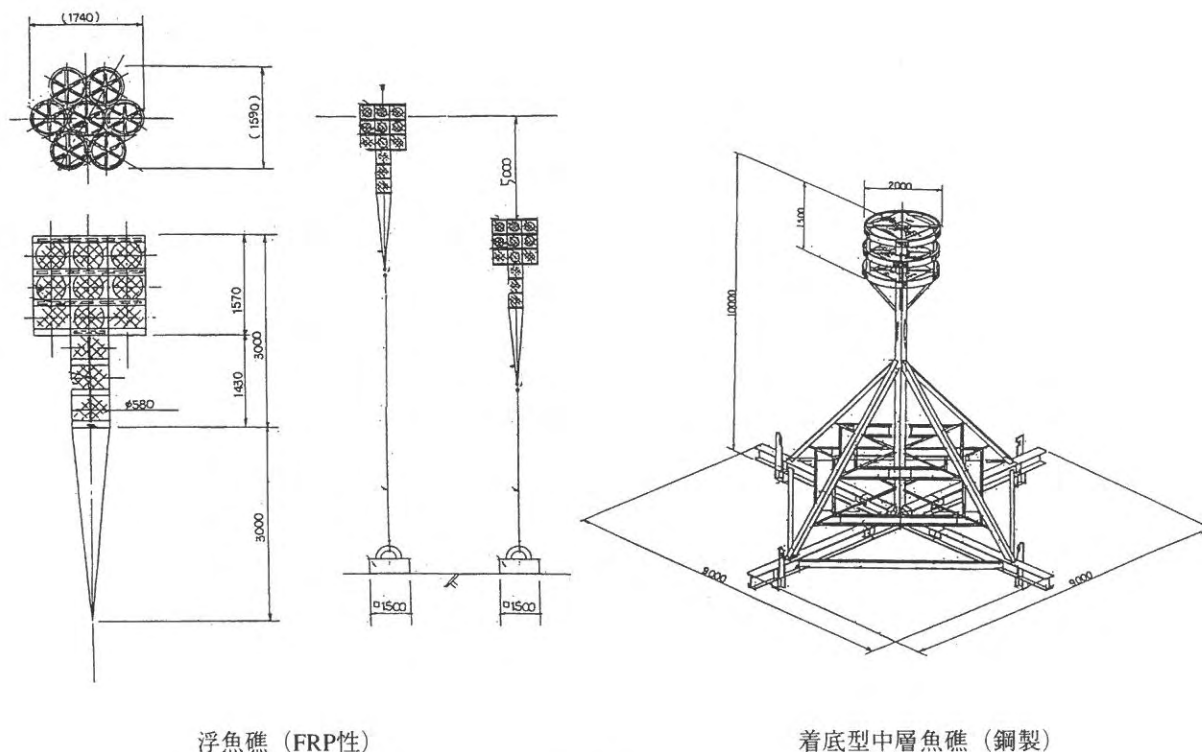
主対象魚種であるマアジの蛸集尾数を比較すると音響給餌ブイ作動時が最も高く、次いで浮魚礁区、音響給餌ブイ未作動時で、浮体構造物のない対象区が最も蛸集尾数が少なかった。音響給餌ブイ作動時と未作動時で比較するとブイ作動時の方が未作動時の1.4倍で蛸集量が多かった（図6）。

4. 今後の課題

以上結果から音響給餌の効果について考えてみると、魚探による魚群量調査でも潜水調査でも音響給餌を行った方が魚群蛸集量が多く、音響給餌は魚群の蛸集に効果があると判断される。その効果の度合いは音響給餌を行わない場合の1.2倍～4倍の範囲内にあると推定された。しかし、今回の調査で得られた数値は生物面から見た効果であり、音響給餌ブイの投資効率、費用対効果の観点からの検討が必要である。また、浮魚礁、着底型中層魚礁については、まず、生物面から見た蛸集効果を把握し、各魚礁を比較の上、総合的な観点から浅海域に適した漁場整備手法を開発する必要がある。

文 献

- 1) 秋元聡・吉田幹英：牧場型新漁場整備技術開発事業、平成9年度福岡県水産海洋技術センター事業報告,51-55（1999）
- 2) 濱野明・内田和良：平成10年度牧場型新漁場整備技術開発事業委託報告書、1-27（1999）
- 3) 濱田弘之他：海洋牧場技術新技術導入事業、平成6年度福岡県水産海洋技術センター事業報告,59-64（1995）



浮魚礁（FRP性）

着底型中層魚礁（鋼製）

付図 魚礁の構造

付表1 潜水観察による魚群の蛸集状況 (H10.7.14)

魚種	音響給餌ブイ区stn.1		浮魚礁区stn.2		対象区stn.3	
	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ
マアジ	◎	小	●	小中	●	小中
イサキ	—		—		—	
カタクチイワシ	—		○	小	—	
ブリ	+	大	△	大	△	大
カンパチ	△	小	△	小	—	
カサゴ	△	中小	△	中小	△	中小
メバル	△	中小	◎	中	○	中
オニオコゼ	+	中	—		+	中
スズキ	+	大	—		△	大
ヒラメ	+	大	+	大	—	
イシガレイ	+	大	—		—	
マコガレイ	—		—		—	
マダイ	—		—		—	
クロダイ	—		—		—	
ヘダイ	—		—		—	
イシダイ	—		—		—	
イシガキダイ	—		—		—	
マハタ	—		+	中	+	中
コモンフグ	+	中小	+	中小	—	
ハコフグ	+	小	—		—	
カワハギ	△	小	△	小	△	小
ウマヅラハギ	—		△	中小	—	
ササノハベラ	△	小	△	小	△	小
キュウセン	△	中小	△	中小	△	中小
イトベラ	△	小	△	小	△	小
ホンベラ	△	小	△	小	△	小
ホンソメワケベラ	—		—		—	
キビナゴ	—		◎	小	—	
カマス類	—		—		△	小
ヒイラギ	—		—		○	小
アイゴ	△	大	△	大	△	大
メジナ	○	小	◎	中	○	小
イスズミ	+	小	—		—	
コロダイ	△	大	△	大	△	大
ウミタナゴ	—		△	大	—	
スズメダイ	○	小	○	小	○	小
ソラスズメダイ	△	小	△	小	△	小
オヤビツチャ	△	小	—		—	
ヨソギ	—		+	小	—	
ソウシハギ	—		—		—	
コブダイ	—		—		—	
ニザダイ	—		—		—	
クロホシフエダイ	—		—		—	
ハタタテダイ	—		—		—	
キンチャクダイ	—		—		—	
ネンブツダイ	—		—		—	
クロイシモチ	—		—		—	
テンジクイサキ	—		—		—	
シマイサキ	—		—		—	
ミノカサゴ	—		+	中	—	
アイナメ	—		+	中	—	
サビハゼ	○	小	○	小	○	小
ニシキハゼ	—		—		—	
ニジギンポ	—		—		—	
クロアナゴ	—		—		—	
ゴンズイ	—		—		—	
アオヤガラ	—		—		—	
ドチザメ	—		—		—	

凡例
蛸集尾数

●: 万尾

◎: 千尾

○: 百尾

△: 十尾

+: 数尾

サイズ

大: 25cm以上

中: 15-25cm

小: 15cm未満

付表2 潜水観察による魚群の蛸集状況 (H10.8.21)

魚種	音響給餌 蛸集尾数	ブイ区stn.1 サイズ	浮魚礁区stn.2 蛸集尾数	サイズ	対象区stn.3 蛸集尾数	サイズ
マアジ	◎	中	○	小中	●	小
イサキ	●	小	◎	小	●	小
カタクチイワシ	—	—	—	—	—	—
ブリ	+	大	△	大	△	大
カンパチ	—	—	△	小	—	—
カサゴ	△	中小	△	中小	△	中小
メバル	△	中小	◎	中	○	中
オニオコゼ	+	中	+	中	+	中
スズキ	+	大	△	大	△	大
ヒラメ	+	大	+	大	—	—
イシガレイ	+	中	—	—	+	大
マコガレイ	—	—	—	—	—	—
マダイ	△	小中	◎	小中	○	小中
クロダイ	△	大	△	大	△	大
ヘダイ	△	中	—	—	—	—
イシダイ	○	中小	○	中小	○	中小
イシガキダイ	+	小	—	—	—	—
マハタ	—	—	+	中	+	中
コモンフグ	△	小中	△	小中	△	小中
ハコフグ	+	小	+	小	+	小
カワハギ	△	小中	△	小	△	小
ウマヅラハギ	△	小中	△	小中	△	小中
ササノハベラ	△	小	△	小	△	小
キュウセン	○	小	○	小	○	小
イトベラ	△	小	△	小	△	小
ホンベラ	○	小	○	小	△	小
ホンソメワケベラ	—	—	—	—	—	—
キビナゴ	◎	小	◎	小	●	小
カマス類	—	—	△	小	△	小
ヒイラギ	—	—	—	—	—	—
アイゴ	△	大	△	大	△	大
メジナ	○	小中	◎	中	○	小
イスズミ	+	小	—	—	—	—
コロダイ	△	大	△	大	△	大
ウミタナゴ	△	大	—	—	—	—
スズメダイ	○	小	○	小	○	小
ソラスズメダイ	△	小	△	小	△	小
オヤビツチャ	○	小	○	小	—	—
ヨソギ	—	—	+	小	—	—
ソウシハギ	—	—	+	中	—	—
コブダイ	—	—	+	小中	—	—
ニザダイ	+	小	+	小	—	—
クロホシフエダイ	—	—	—	—	—	—
ハタテダイ	—	—	—	—	—	—
キンチャクダイ	—	—	—	—	—	—
ネンブツダイ	◎	小	—	—	◎	小
クロイシモチ	—	—	—	—	—	—
テンジクイサキ	+	小	—	—	—	—
シマイサキ	—	—	+	小	—	—
ミノカサゴ	—	—	+	中	+	中
アイナメ	—	—	+	中	+	中
サビハゼ	○	小	○	小	○	小
ニシキハゼ	—	—	+	小	—	—
ニジギンボ	—	—	+	小	—	—
クロアナゴ	—	—	—	—	—	大
ゴンズイ	—	—	—	—	—	—
アオヤガラ	—	—	—	—	—	—
ドチザメ	—	—	—	—	+	大

付表3 潜水観察による魚群の鰈集状況 (H10.11.26)

魚種	音響給餌ブイ区stn.1		浮魚礁区stn.2		対象区stn.3	
	鰈集尾数	サイズ	鰈集尾数	サイズ	鰈集尾数	サイズ
マアジ	△	小中	○	大中	△	小中
イサキ	—		—		—	
カタクチイワシ	◎	小	◎	小	◎	小
ブリ	—		—		—	
カンパチ	—		—		—	
カサゴ	△	中	△	中	△	中
メバル	△	中	○	大中	△	中
オニオコゼ	+	中	+	中	+	中
スズキ	—		—		—	
ヒラメ	—		+	大	+	中
イシガレイ	—		+	大	+	中
マコガレイ	—		—		—	
マダイ	△	小	△	小	△	小中
クロダイ	△	中大	+	中大	+	中
ヘダイ	—		—		—	
イシダイ	+	小	△	中小	—	
イシガキダイ	—		—		—	
マハタ	△	小	+	小	+	小
コモンフグ	+	小中	+	小中	△	小中
ハコフグ	+	小	+	小	—	
カワハギ	+	小	+	小	△	小
ウマヅラハギ	△	中	○	大中	△	中
ササノハベラ	△	小	△	小	△	小
キュウセン	△	小	△	小	—	
イトベラ	△	小	△	小	△	小
ホンベラ	△	小	△	小	—	
ホンソメワケベラ	+	小	—		—	
キビナゴ	—		—		—	
カマス類	—		—		—	
ヒイラギ	—		—		—	
アイゴ	△	小中	+	小	—	
メジナ	△	小	△	小	—	
イスズミ	—		—		—	
コロダイ	—		—		—	
ウミタナゴ	—		—		—	
スズメダイ	△	小	○	小	△	小
ソラスズメダイ	△	小	△	小	△	小
オヤビツチャ	△	小	△	小	—	
ヨソギ	+	小	+	小	+	小
ソウシハギ	—		—		—	
コブダイ	—		—		—	
ニザダイ	—		—		+	小
クロホシフエダイ	—		—		+	小
ハタタテダイ	—		—		+	小
キンチャクダイ	—		—		—	
ネンブツダイ	△	小	○	小	○	小
クロイシモチ	—		—		—	
テンジクイサキ	—		—		—	
シマイサキ	—		—		—	
ミノカサゴ	—		—		—	
アイナメ	+	中	+	中	+	大
サビハゼ	△	小	△	小	△	
ニシキハゼ	—		—		—	
ニジギンボ	△	小	△	小	—	
クロアナゴ	—		—		—	
ゴンズイ	—		—		—	
アオヤガラ	—		—		—	
ドチザメ	—		—		—	

付表4 潜水観察による魚群の蛸集状況 (H10.12.18)

魚種	音響給餌ブイ区stn.1		浮魚礁区stn.2		対象区stn.3	
	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ
マアジ	△	小	○	小	△	小
イサキ	—		—		—	
カタクチイワシ	◎	小	◎	小	◎	小
ブリ	—		—		—	
カンパチ	—		—		—	
カサゴ	△	中	△	中	△	中
メバル	△	中	○	大中	△	中
オニオコゼ	+	中	+	中	+	中
スズキ	—		—		—	
ヒラメ	—		+	大	+	中
イシガレイ	—		—		+	中
マコガレイ	—		—		—	
マダイ	△	小	△	小	○	小
クロダイ	△	中	+	中	+	中
ヘダイ	—		—		—	
イシダイ	+	小	△	小中	—	
イシガキダイ	—		—		—	
マハタ	△	小	+	小	+	小
コモンフグ	+	小中	○	小中	△	小中
ハコフグ	+	小	+	小	—	
カワハギ	+	小	+	小	△	小
ウマヅラハギ	△	中	○	大中	△	中
ササノハベラ	△	小	△	小	△	小
キュウセン	△	小	△	小	+	小
イトベラ	△	小	△	小	△	小
ホンベラ	△	小	△	小	+	小
ホンソメワケベラ	+	小	—		—	
キビナゴ	—		—		—	
カマス類	—		—		—	
ヒイラギ	—		—		—	
アイゴ	△	小中	+	小	—	
メジナ	△	小	△	小	—	
イスズミ	—		—		—	
コロダイ	—		—		—	
ウミタナゴ	—		—		—	
スズメダイ	○	小	○	小	△	小
ソラスズメダイ	△	小	△	小	△	小
オヤビツチャ	—		—		—	
ヨソギ	+	小	+	小	+	小
ソウシハギ	—		—		—	
コブダイ	—		+	小	—	
ニザダイ	—		—		+	中
クロホシフエダイ	—		+	小	—	
ハタタテダイ	—		—		+	小
キンチャクダイ	—		—		+	小
ネンブツダイ	△	小	○	小	○	小
クロイシモチ	—		+	小	—	
テンジクイサキ	—		—		—	
シマイサキ	—		—		—	
ミノカサゴ	—		—		—	
アイナメ	+	中	+	中	+	大
サビハゼ	△	小	△	小	△	小
ニシキハゼ	—		—		—	
ニジギンポ	△	小	△	小	—	
クロアナゴ	—		—		—	
ゴンズイ	—		—		—	
アオヤガラ	—		+	大	—	
ドチザメ	—		—		—	

付表5 潜水観察による魚群の蛸集状況 (H11.2.26)

魚種	音響給餌ブイ区stn.1		浮魚礁区stn.2		対象区stn.3	
	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ	蛸集尾数	サイズ
マアジ	—		—		—	
イサキ	—		—		—	
カタクチイワシ	—		—		—	
ブリ	—		—		—	
カンパチ	—		—		—	
カサゴ	—		—		—	
メバル	—		—		+	小
オニオコゼ	—		—		—	
スズキ	△	大	—		—	
ヒラメ	—		+	大	—	
イシガレイ	—		—		—	
マコガレイ	+	大	—		—	
マダイ	—		—		—	
クロダイ	△	大	+	大	—	
ヘダイ	—		—		—	
イシダイ	—		—		—	
イシガキダイ	—		—		—	
マハタ	—		—		—	
コモンフグ	+	小中	○	小中	+	小中
ハコフグ	—		—		—	
カワハギ	—		—		+	小
ウマヅラハギ	—		—		—	
ササノハベラ	+	小	+	小	+	小
キュウセン	—		—		—	
イトベラ	—		—		—	
ホンベラ	—		—		—	
ホンソメワケベラ	—		—		—	
キビナゴ	—		—		—	
カマス類	—		—		—	
ヒイラギ	—		—		—	
アイゴ	—		—		—	
メジナ	—		—		—	
イスズミ	—		—		—	
コロダイ	—		—		—	
ウミタナゴ	—		—		—	
スズメダイ	+	小	+	小	—	
ソラスズメダイ	—		—		—	
オヤビツチャ	—		—		—	
ヨソギ	—		—		—	
ソウシハギ	—		—		—	
コブダイ	—		—		—	
ニザダイ	—		—		—	
クロホシフエダイ	—		—		—	
ハタテダイ	—		—		—	
キンチャクダイ	—		—		—	
ネンブツダイ	—		—		—	
クロイシモチ	—		—		—	
テンジクイサキ	—		—		—	
シマイサキ	—		—		—	
ミノカサゴ	—		—		—	
アイナメ	—		—		—	
サビハゼ	—		—		—	
ニシキハゼ	—		—		—	
ニジギンボ	—		—		—	
クロアナゴ	—		—		—	
ゴンズイ	—		—		△	小
アオヤガラ	—		—		—	
ドチザメ	—		—		—	

人工魚礁漁場の生産効果調査

宮内 正幸・秋元 聡

本調査は、人工魚礁をはじめとする礁漁場の総合的な評価を行うとともに、各漁場の漁獲特性を明らかにし、効果的な漁場造成を行うための基礎資料を得ることを目的とする。

方 法

筑前海域西部で釣漁業を盛んに行っている福岡市協志賀島支所の操業日誌（平成7～9年）をもとに、礁漁場の利用実態を整理した。標本船数は平成7年度が6隻、平成8年度が5隻、平成9年度が2隻であった。

結果及び考察

1. 礁別利用割合の推移

3カ年で利用された漁場は、志賀島周辺から小呂島周辺に及ぶ筑前海の西部海域であった（図1）。この海域には人工魚礁や天然礁が広く分布している。

そこで、人工魚礁、天然礁、沈船礁それぞれの利用割合の推移を整理した（図2）。

志賀島の釣は人工魚礁と天然礁を主に利用しており、両者を合わせて全体のほぼ9割以上を占めていた。

礁別にみると、人工魚礁の利用割合は、全体の33～55%の範囲で推移しており、平均では44.7%であった。なかでも、平成8年度は55%と天然礁を上回る利用状況であった。一方、天然礁の利用割合は、43～64%の範囲にあり、平均で49.3%であった。その他、沈船礁・不明の利用割合は平均でそれぞれ2.6%、3.4%であつ

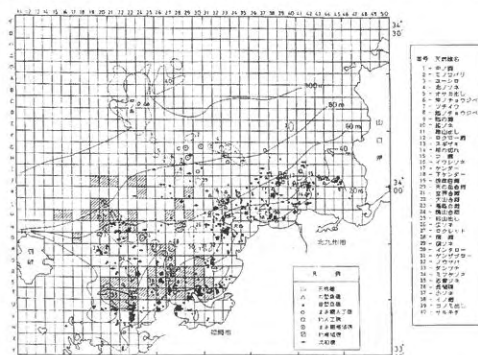


図1 利用漁場の分布（斜線部分が利用された漁場）

た。

このように釣漁業においては、人工魚礁と天然礁がほぼ半々の割合で利用されており、人工魚礁の重要性が示唆される。

2. 礁別漁獲割合の推移

人工魚礁、天然礁、沈船礁それぞれにおける漁獲割合の推移を整理した（図3）。

利用割合同様、漁獲量でも人工魚礁と天然礁をあわせると全体の9割以上を占めていた。

人工魚礁における漁獲量は、全体の35～51%の範囲で推移しており、平均では44.7%であった。一方、天然礁における漁獲量は、48～63%の範囲にあり、平均で52.3%であった。その他、沈船礁・不明における漁獲量は、平均でそれぞれ1.2%、1.8%であった。

漁獲量の面でも利用割合同様、天然礁に匹敵する量が漁獲されており、人工魚礁は釣漁業に欠かせない存在で

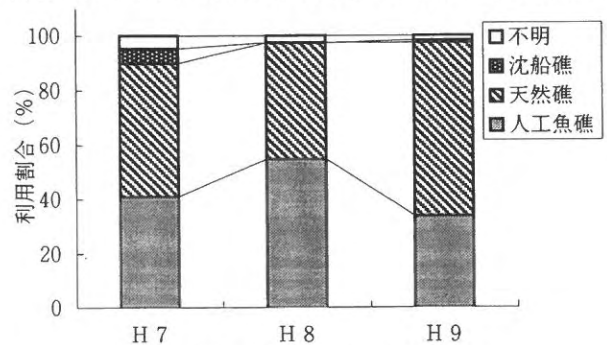


図2 礁別利用割合の推移

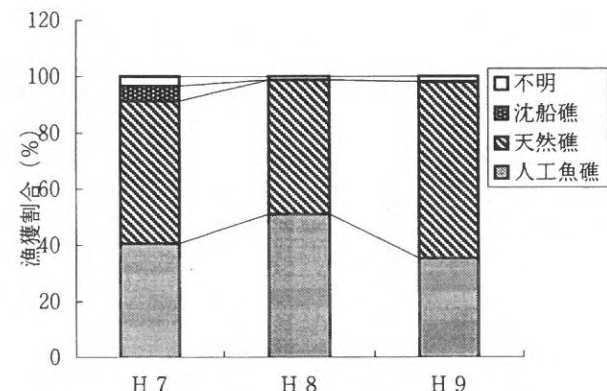


図3 礁別漁獲割合の推移

あると考えられる。

3. 魚種別礁別漁獲量の推移

人工魚礁、天然礁、沈船礁それぞれで漁獲された魚種について、漁獲量の推移を整理した（図4）。

人工魚礁では、主としてブリ類・アジ類・スズキが漁獲されていた。特にブリ類は各年とも天然礁を上回る漁獲があり、平均すると全体の74%が人工魚礁で漁獲されていた。アジ類・スズキは年による差はあるものの、漁獲量が少なかった年を除くと、人工魚礁での漁獲が多かった。平均すると、それぞれ全体の71%、73%が人工魚礁で漁獲されていた。このことから、人工魚礁はこ

れら表中層魚に対して非常に高い効果を上げていると言える。

また、人工魚礁におけるヒラメ・カレイ類やカサゴ類、タイ類といった中底層魚の漁獲も、天然礁には劣るものの平均すると全体の30%以上を占めており、大きな役割を果たしていると言える。一方、イシダイはほとんどが天然礁で漁獲されており、人工魚礁の効果は薄いようである。

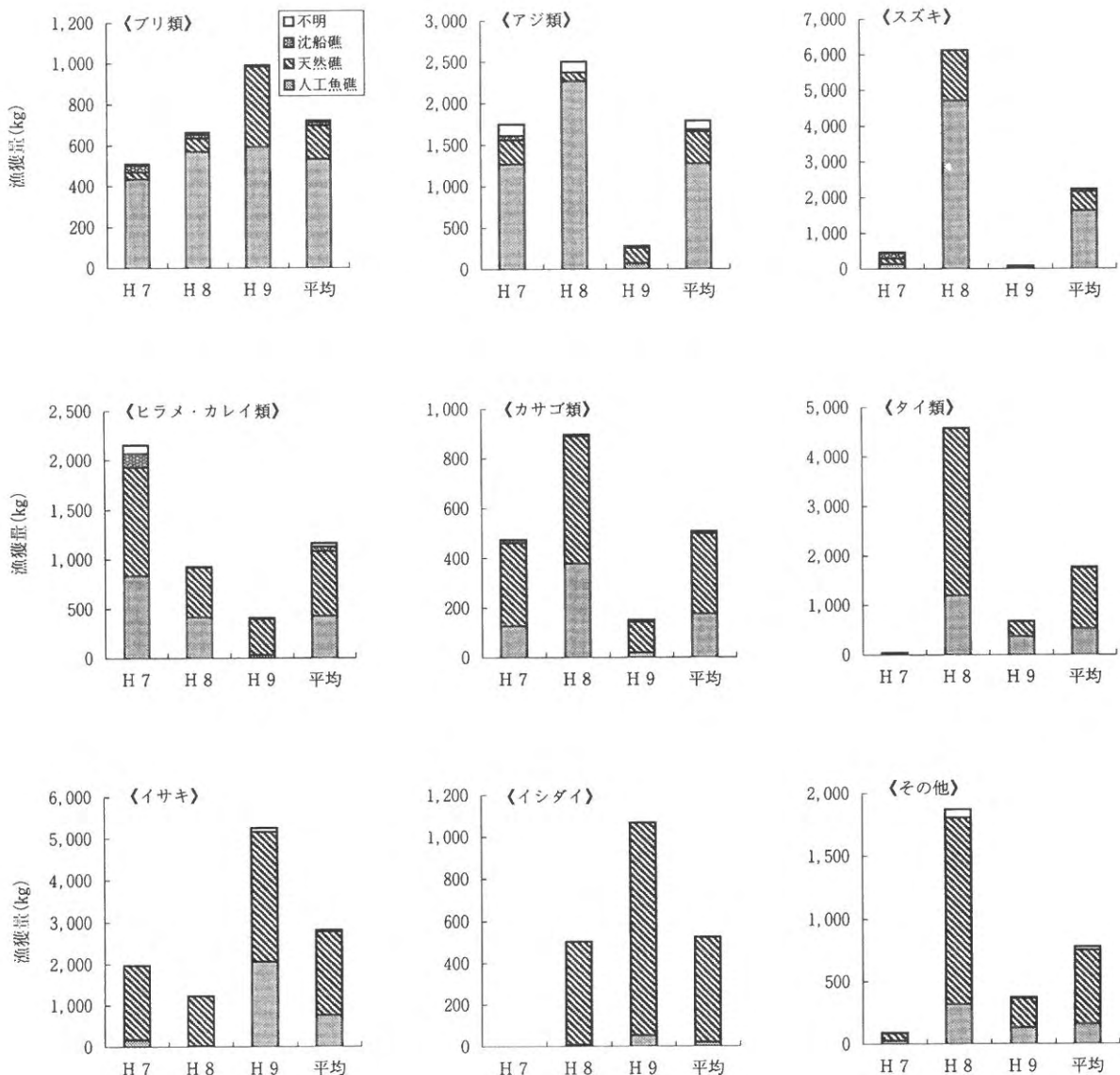


図4 礁別漁獲量の推移

糸島地区大規模漁場保全事業調査

深川 敦平・神薗 真人・太刀山 透

糸島地区では、軟泥の堆積のためにクルマエビ、クマエビ、トラフグ、ヒラメ、マダイ等の幼魚の生育漁場の底質が悪化しており、その回復策として、覆砂による底質改善が望まれている。本調査は漁場環境や生物環境、対象生物の生育条件等を明らかにし、適地の選択、配置及び事業効果等、全体計画を策定するための基礎資料を得ることを目的としている。

方 法

調査海域内の漁場環境、生物環境を調査し、造成位置・規模決定の基礎資料とした。なお、深浅測量調査、流況調査、底生生物の種の同定、覆砂後の施設の維持等については国際航業株式会社に委託した。

1. 深浅測量調査

図1に示す調査海域(1.8×3.0km)において、精密音響測深機を用いて行った。測線間隔及び測点間隔はそれぞれ100mとした。

2. 流況調査

図1に示す5調査点(Stn.1~5)において、15昼夜定点流況連続観測を行った。Stn.1, 2, 3, 5では海底上2m, Stn.4では海底上1mでの10分間毎の流向、流速を観測した。

3. 漁場環境調査

(1)水質調査

平成10年5月と8月の2回、図2に示す25調査点で、水温、塩分、溶存酸素を、6調査点でCOD及びSSの



図1 調査点

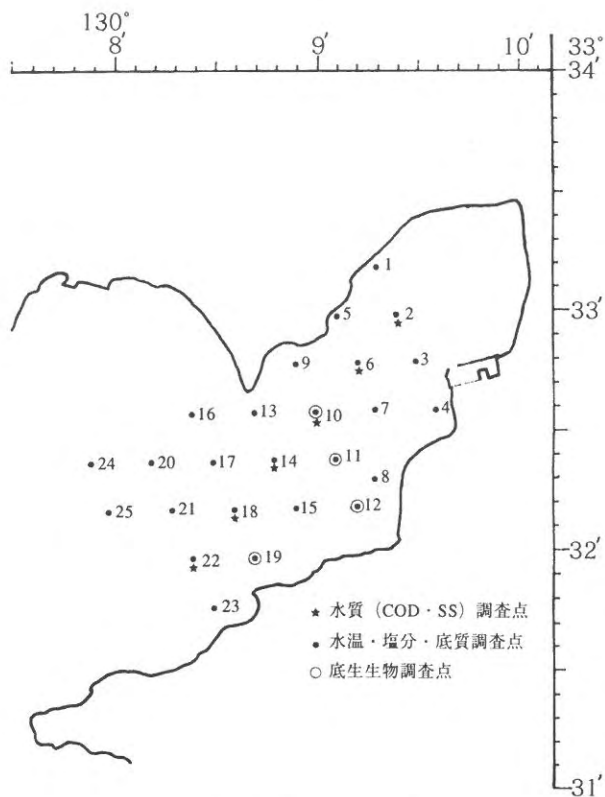


図2 底質等調査点図

調査を行った。

(2)底質調査

10年5月と8月に、図2に示した25調査点で、スミス・マッキンタイヤ型採泥機 (1/20m²) を用いて試料を採取し、中央粒径値、強熱減量 (I L : 550℃, 6時間)、全硫化物 (検知管法) について測定した。

4. 底生生物 (マクロベントス) 調査

底質調査で採取した25調査点の泥のうち、図2に示した4調査点 (Stn.10, 11, 12, 19) の泥を試料として、1mmメッシュのネットでするいにかけて、残った底生生物を10%ホルマリンで固定した後、種類毎に個体数、湿重量を調査した。

5. 施設の維持

地耐力、浮泥の沈降、潮流・波浪による覆砂の流出、及び最終沈下量の側面から、造成10年後の覆砂の沈下量を推定した。

(1)浮泥の堆積状況観測

図1のStn.1, 3, 5において、10年8月5日に鉄筋棒 (目盛り付き) を設置し、浮泥の堆積状況を11月27日まで調査した。

(2)覆砂検証試験

図1のStn.1, 3において、10年8月20日に2×2m, 砂厚30cmの覆砂を行い、4角に目盛り付きの鉄筋棒を設置し、砂の沈降状況を11月27日まで観察した。

(3)設計波の算定

設計地点が湾奥にあるため、外洋 (玄界灘) で発生した波は、島や岬による回折、海底地形の変化による屈折の影響を受けるためそれを考慮し、設計地点に到達する波高を求めた。それに対し、湾内で発生する波は周辺地形の影響をあまり受けずに設計地点に到達する。以上の2点を考慮し、外洋より到達する波と湾内で発生する波を推算して比較検討して設計波高を求めた。

6. 覆砂効果調査

調査区域内の底質の違う2点 (砂域、泥域) においてえびこぎ網の操業試験を4回/年実施し、出現種及び尾数を比較した。

調査には、ビーム長1.5mのえびこぎ網を使用し、曳網時間は10分、曳網速度は2ノット (3,704m) で、各点それぞれ5回曳網した。

結 果

1. 深浅測量調査

深浅測量調査の結果を図3に示した。本調査海域の海底地形は、湾の形状 (凹状) に沿った形で湾口に向かうに従って深くなっている。

調査海域内の水深は、0.9~11.5mの範囲にあり、加布里漁港前海域で1~3m程度、箱島北西海域で5m前後、立石崎とノウ瀬を結ぶ付近が8~9mであり、その外側が10m以深となっている。

2. 流況調査

平均大潮期の流況を図4に示した。下げ潮流は、各測点とも湾口へ向かう南西流であり、逆に上げ潮時はStn.1~3では、湾口に向かう北東流を示すが、Stn.4と5では恒流の影響によりやや東に傾いた流れになっている。上げ潮流最強流速は1.6~4.6cm/sec, 下げ潮流最強流速は2.9~4.2cm/secである。

恒流方向を図5に示した。恒流は、湾奥のStn.1~3で北西流を示し、Stn.4は南東方向、Stn.5は南西流を示す。流速は、Stn.4で2cm/sec程度、その他の測点では1cm/sec程度と微弱である。

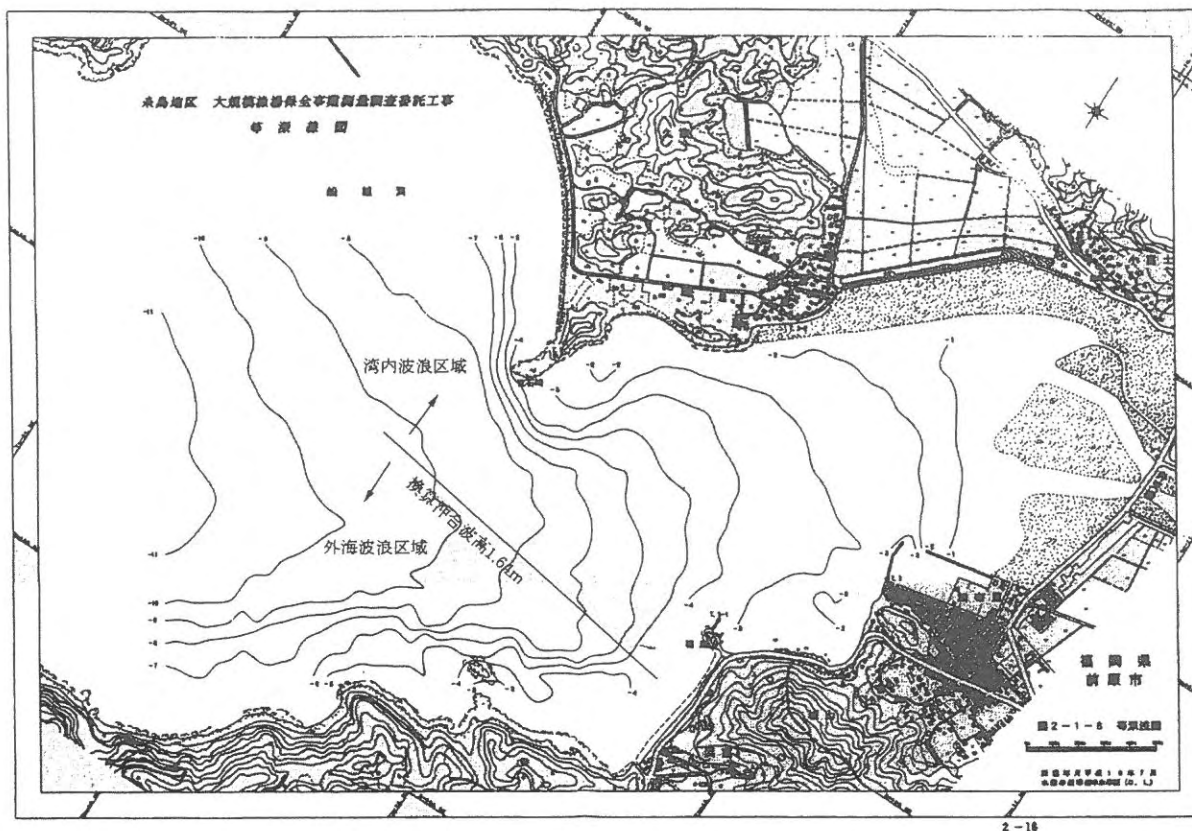


図3 等深线图

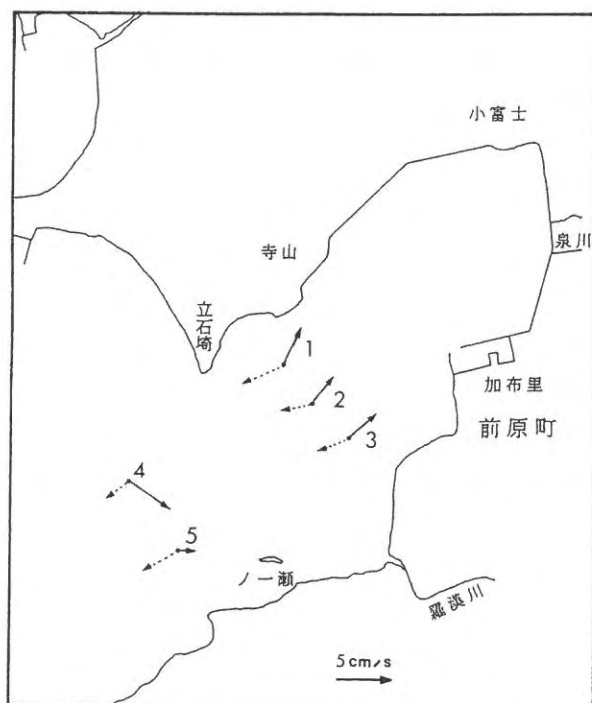


図4 平均大潮期流況図

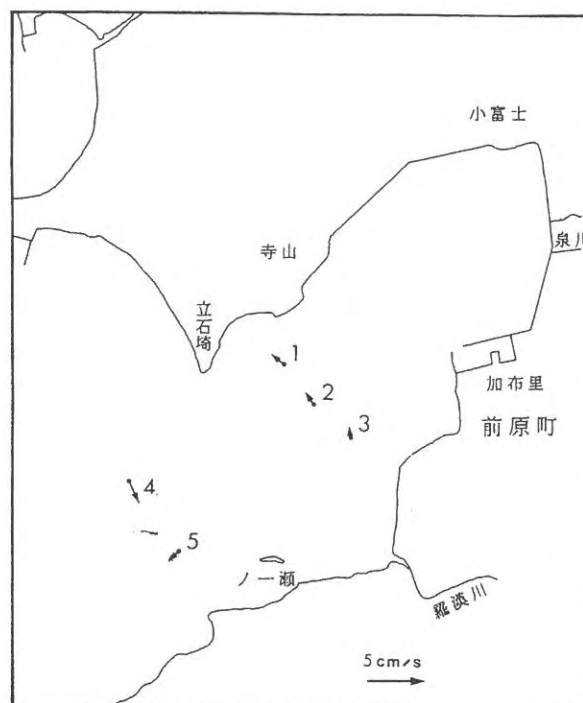


図5 恒流図

3. 漁場環境調査

(1) 水質調査

水質調査の結果を表1に示した。

水温は表層で19.6~30.9℃，底層で18.9~30.7℃で

表1 事業実施予定海域における水質

調査項目		調査日	
		H10.5.20 平均 (範囲)	H10.8.10 平均 (範囲)
水 温 (℃)	表層	22.6 (19.6-25.0)	30.3 (28.9-30.9)
	底層	19.3 (18.9-22.9)	29.8 (29.0-30.7)
塩 分	表層	30.85 (25.76-33.37)	30.35 (28.90-30.90)
	底層	33.56 (31.92-33.87)	32.08 (31.07-32.48)
溶存酸素 (mg/l)	表層	8.82 (7.97-9.70)	6.37 (5.36-7.99)
	底層	7.08 (6.45-8.21)	5.91 (4.92-7.58)
C O D (mg/l)	表層	1.24 (0.84-1.59)	1.46 (0.87-2.37)
S S (mg/l)	表層	4.77 (2.93-6.23)	6.48 (2.03-16.73)

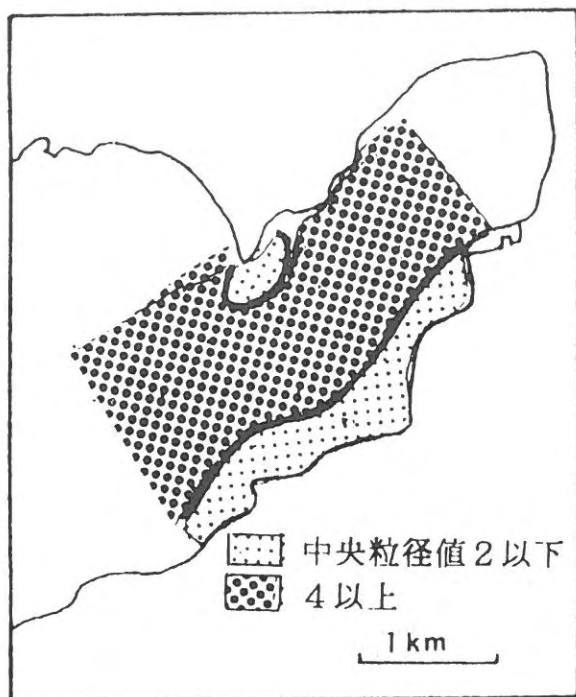


図6 事業実施予定海域における中央粒径値

あった。塩分は表層で25.76～33.37、底層で31.07～33.87であった。

溶存酸素は、表層で5.36～9.70mg/l、底層で4.92～8.21mg/lであり、水産用水基準に示された、内湾漁場の夏季底層において最低限維持しなくてはならない値とされる4.3mg/lを下回ることにはなかった。

しかしながら、CODとSSの値は高く、CODでは大部分の調査点で水産用水基準の1mg/lを上回っており、SSでは全ての調査点で基準の2mg/lを上回っていた。有機汚染の進行した底泥に覆砂を行うことによって、底泥からのCODの溶出及び濁りの再懸濁を抑制することが知られており、当調査範囲内に覆砂することによって、底質の改善及び水質の浄化が期待できる。

(2)底質調査

底質調査の結果を図6、7、8に示した。

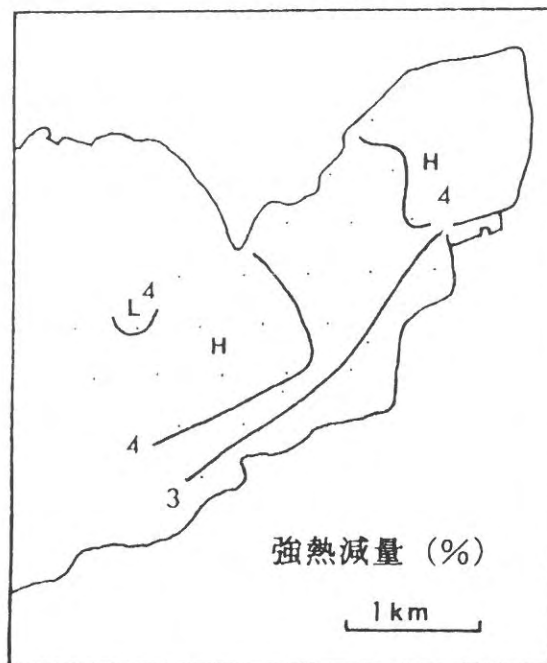


図7 事業実施予定海域における強熱減量

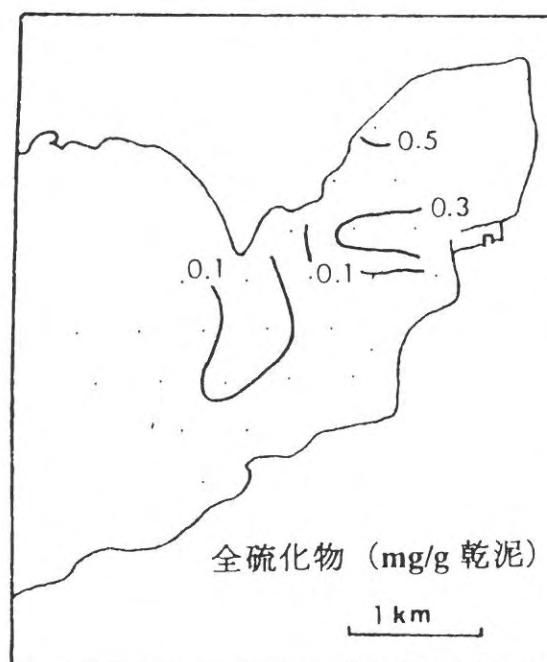


図8 事業実施予定海域における硫化物濃度

事業実施予定海域の大部分は中央粒径値4以上の泥質であった。強熱減量は4%前後の値であり、それほど有機汚染は進行していない。硫化物濃度は、奥域で高い値が見られるものの、大部分の海域は0.1mg/g乾泥であった。これらの結果から、事業実施予定海域は、それほど底質の有機汚染は進行しておらず、また夏季においても硫化物の生成は少ないことが分かった。ただ、中央粒径値が高く、泥の粒度組成から見るとエビ類や魚類の幼

表2 底生生物調査結果

調査項目	0.1m ² 当り	
	調査口 H10.5.20 平均 (範囲)	調査口 H10.8.10 平均 (範囲)
種類数	40 (28-45)	36 (26-46)
個体数	147 (84-206)	172 (118-252)
湿重量 (g)	4.2 (2.0-13.1)	3.9 (2.1-8.5)

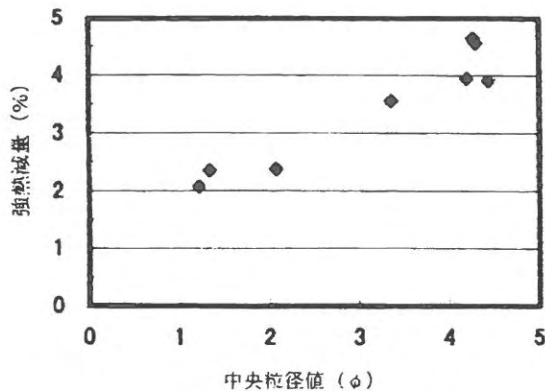


図9 中央粒径値と強熱減量の関係

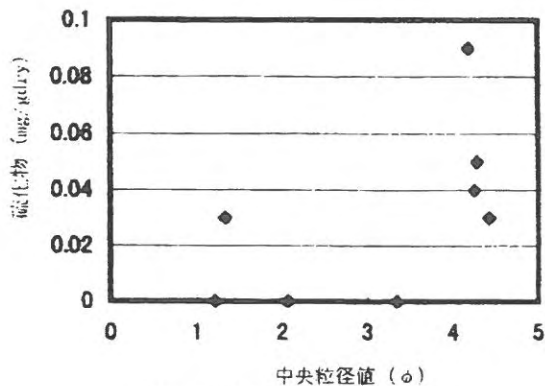


図10 中央粒径値と硫化物の関係

稚魚の生息には不適である場所が多いと言える。

4. 底生生物調査

(1) マクロベントス調査

マクロベントス調査の結果を表2に示す。種類数で最大46種、個体数で252個体であった。5月と8月とでは、底生生物の出現状況（種類数、個体数、湿重量）に大きな違いは見られないが、調査点別では差異が見られ、8月の調査の種類数を見ると、その範囲は26~46種であり、調査点間で約1.7倍の差が見られた。同様に個体数では2.1倍、湿重量では4.0倍であった。

汚染指標種としては、シズクガイ、Paraprionospio sp. Type AとType Bが出現しているが、全出現個体数にしめる汚染指標種の個体数の割合は小さく、いずれの調査でも数%以内であった。

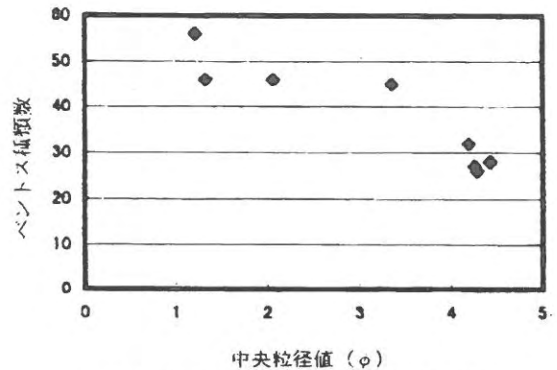


図11 中央粒径値とベントス種類数の関係

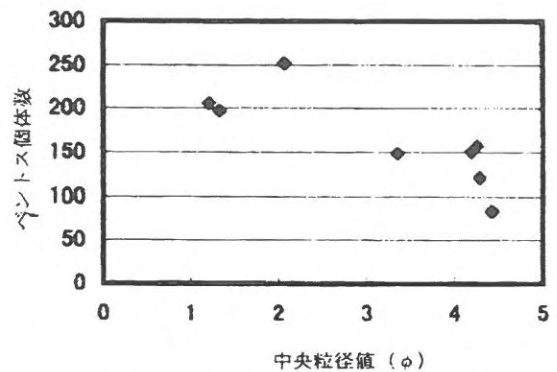


図12 中央粒径値とベントス個体数の関係

(2) 底質と底生生物の関係

底質と底生生物の関係を図9、10、11、12に示す。中央粒径値と底質や底生生物の間には密接な関係がみられ、中央粒径値の値が高くなるに従って、すなわち底泥中の泥分率が高くなるに従って、底質は悪化し、底生生物の種類数、個体数が減少することが分かる。

事業予定海域の底質の大部分は中央粒径値4以上の泥域であり、事業予定地に覆砂を行うことによって底質が改善され、底生生物の種類数、個体数がともに増加し、その結果、エビ類や底生性魚類の資源の回復が期待できる。

5. 施設の維持

(1) 浮泥の堆積状況観測

浮泥の堆積状況調査結果を表3に示す。各調査点とも5cm前後の浸食、堆積を繰り返しており、設置から観測終了までの114日間では浮泥の堆積は認められなかった。

(2) 覆砂検証試験

覆砂検証試験の結果を表4に示した。覆砂直後は30cmの砂厚の重みで2cmののり込みによる沈下が見られた。その後約100日間で1cmの沈下が認められたが、安定した状態を保っていた。この結果、少なくとも覆砂厚

表3 浮泥の堆積状況観測結果

単位: cm

調査地点 観測日	S t. 1	S t. 3	S t. 5
平成10年8月11日	0	0	0
平成10年8月17日	-2.0	0	0
平成10年8月20日	-5.0	0	-2.0
平成10年9月9日	0	0	0
平成10年11月27日	-4.0	-4.5	-4.0

(注) 観測設置日: 平成10年8月5日

表4 覆砂検証試験結果

単位: cm

調査地点 観測日	S t. 1	S t. 3
平成10年8月20日	28	23
平成10年9月9日	27	23
平成10年11月27日	27	27

(注) 設置日: 平成10年8月20日

30cmまでの地耐力は有すると考えられる。なお、覆砂場には浮泥の堆積はほとんど見られなかった。

(3) 覆砂の流出

① 潮流による流出

潮流による漂砂移動量を、潮流調査により得られた平均大潮時の最強時流速を用い、Brawnの式により解析した結果、その量は覆砂幅1mあたり、年間で数kgオーダーであり、無視できる程度といえる。

② 波浪による流出

30年確率波高が12時間継続するという厳しい条件で、Madosen and Grantの式により漂砂量を算出した。図3に示す湾内波浪区域は湾内発生波が対象となるため調査範囲内の南東と北西を結ぶ方向と波向が一致し、流出量は小さい。外海波浪区域は外洋波が対象となるため、調査範囲内の東と西を結ぶ方向から波が当たり、流出量が多くなる可能性があるが、その流出量を計算上の最大値をとっても5cmの水深変化となり、覆砂が機能する上で問題はない。

(4) 最終沈下量

沿岸漁場整備開発事業施設設計指針に基づき、砂厚20cmで最終沈下量を計算すると、覆砂検証試験結果から砂厚30cmで2cmの沈下が認められたことから、そのうち極軟層における沈下は1cmであると考えられる。このことから極軟層によるのめり込みは砂厚20cmであれば1cm以下である。また、底質調査に基づく厚密沈下計算では、10年後の沈下量は6cmとなる。従って総沈下量は極軟層におけるのめり込み沈下量と、厚密沈下量を足した7cmであると推定できる。

表5 えびこぎ網操業試験結果 (種類数)

(単位: 種)

	6月17日		8月3日		10月14日		12月7日	
	砂域	泥域	砂域	泥域	砂域	泥域	砂域	泥域
甲殻類	2	2	5	5	7	3	4	2
魚類	2	1	9	2	5	2	3	1
頭足類	0	0	2	1	1	0	0	0
計	4	3	16	8	13	5	7	3

表6 えびこぎ網操業試験結果 (魚種別個体数)

(単位: 尾)

	6月17日		8月3日		10月14日		12月7日	
	砂域	泥域	砂域	泥域	砂域	泥域	砂域	泥域
クルマエビ	17	0	49	10	20	0	9	0
クマエビ	0	0	20	0	67	0	19	0
トラフグ	0	0	22	0	0	0	0	0
ヒラメ	7	0	14	0	13	0	0	0
マダイ	0	0	66	9	46	0	0	0
その他甲殻類	11	30	44	41	102	19	27	13
その他魚類	148	49	176	7	154	71	82	19
頭足類	0	0	73	28	7	0	0	0
計	176	79	464	95	409	90	137	32

6. 覆砂効果調査

覆砂効果調査の結果を表5、6に示す。4回の調査全において魚種数、魚種別漁獲尾数ともに砂域が泥域を上回った。

総魚種別漁獲尾数の中にあるその他の甲殻類には、ヨシエビ、シャコ、サルエビ、アカエビ、トラエビ、イシガニが、その他の魚類にはヒイラギ、スズキ、マアジ、エソ、マゴチ、ネズミゴチ、ヤキインハゼ、シロギス、マハタ、クロダイが、頭足類にはジンドウイカ、コウイカが含まれる。

この結果、事業予定海域で覆砂を行うことにより、生物種が多様性に富み、重要魚種を対象にした漁場及び育成漁場としての効果が期待できる。

7. 総合解析

これらのことから、調査海域内に覆砂による底質改善を行うことは適当であると判断された。覆砂の形状は、泉川からの土砂等の流れ込みから施設を保持するため、覆砂幅100mに対し、幅30mのスリットを入れることが望ましい。また、設置場所は稚エビや稚魚の成育を考え、加布里干潟に隣接するよう調査範囲の中でも最も水深の浅い部分にした。これらのことを総合して覆砂の配置を図13に設定した。

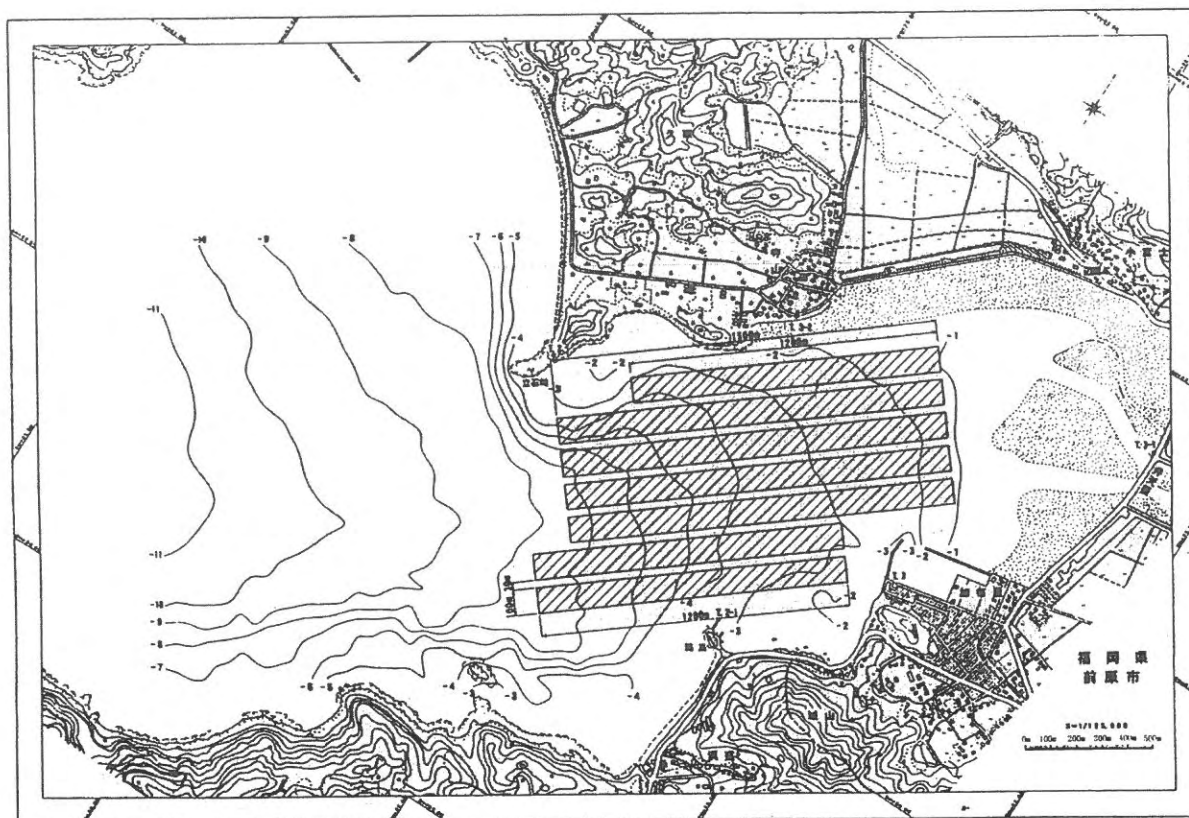


図13 調査結果からみた事業実施場所

ワカメ養殖安定生産技術開発事業

福澄 賢二・吉田 幹英・岩渕 光伸・太刀山 透・深川 敦平・杉野 浩二郎

筑前海におけるワカメ養殖業は、漁閑期である冬期の重要な漁業であるが、養殖ワカメの生育は海域環境の影響を受けやすいため、生産量の年変動が大きい。特に近年は、主要な生産地である福岡湾口東部漁場（福岡市漁協志賀島支所及び同漁協弘支所漁場）において、日照不足や濁り、斑点性先腐れ症等による生育不良¹⁾²⁾によって生産量が大きく低下し、漁家の経営に打撃を与えており、早急に対策を講じる必要がある。そこで、当該地区の漁場環境に適した養殖技術を開発することを目的とした調査及び試験を行ったので報告する。

1 養殖調査・試験

方 法

1. 生産者の養殖ワカメ生育状況調査

調査点を図1に示した。福岡湾口東部の福岡市漁協志賀島支所及び弘支所の養殖漁場内にStn.1～4、対照区として外海に位置する志賀島支所の漁場内にStn.5、また、湾内西部の同漁協唐泊支所の養殖漁場内にStn.6を設け、養殖期間中、随時藻体を採集して生育状況及び罹病状況の調査を行った。なお、図中の枠内はワカメ養殖漁場である。

採集したワカメから任意に30個体を抽出し、図2に示す全長、葉長、葉幅、欠刻幅及び湿重量を測定して生育状況を把握するとともに、罹病状況については、斑点性先腐れ症の発症状況を図3に示す5段階³⁾で判定して把握した。

なお、養殖開始日は、種苗生産地の長崎県島原地先海域が高水温傾向にあった影響を受けて、例年に比べて10日前後遅れており、Stn.3, 4, 6が11月11日、Stn.1, 2, 5が11月16日であった。

2. 養殖技術改良試験

(1)産地別種苗養殖試験

福岡地区における養殖ワカメの種苗は、従来から長崎

県島原産のものを用いているが、近年の生産状況から福岡湾口東部の漁場環境により適した種苗の導入を検討する必要がある。そのため、今年度は志賀島産、山口県下関産、長崎県島原産の3種の天然ワカメを母藻として生産した種苗を用いて図1に示すStn.1～5で試験養殖を行い、前述の養殖ワカメ生育状況調査と同様の方法で生育状況、罹病状況の調査を行った。

また、各種苗の生産性を比較するため、摘採期に各種苗の養成ロープ1mあたりの着生重量を求めるとともに、各種苗による養殖ワカメ成体の形態的特徴を比較するため、形質間比として、葉長/全長、葉幅/葉長、欠刻幅/葉幅を求めた。これら形質間比の算出には、末枯れや斑点性先腐れ症の影響が比較的少ない平均全長が最大値を示した日における採集個体の測定結果を用いて求めた。

さらに、Stn.1及びStn.5における採集個体については、藻体先端部における一般生菌数を求め、斑点性先腐れ症の発症状況との関係を調べた。一般生菌数は、水分を除いた藻体の先端部0.1gを乳鉢を用いてホモジナイズし、10倍階段希釈したのちZoBell 2216 E培地中に混釈し、20℃で2週間培養後にコロニーを計数して求めた。

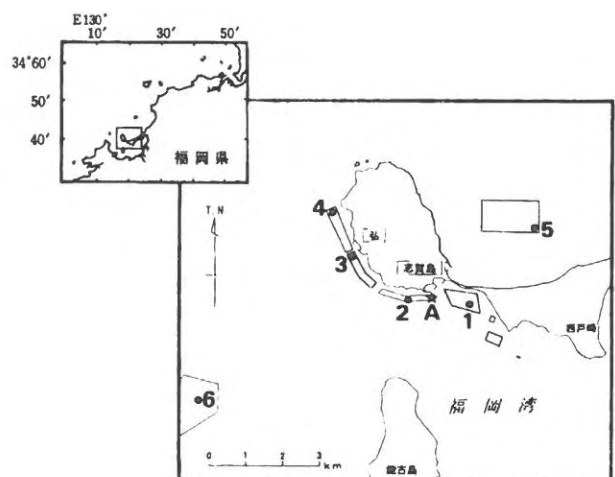
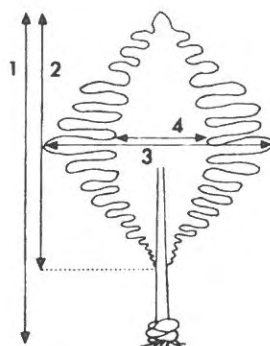
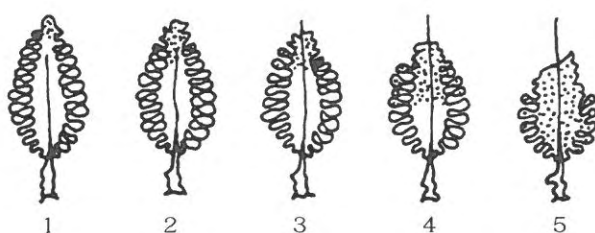


図1 調査点及び試験区位置



1.全長 2.葉長 3.葉幅 4.欠刻幅

図2 測定部位



1. 藻体先端部に斑点や穴が現れ、斑点は水中で緑色を呈する。
2. 斑点と穴は藻体先端部付近の裂葉先端にも現れる。
3. 藻体先端部が枯れ始め、中芯がむき出しになる。
4. 斑点と穴は藻体の半分くらいを被うようになる。
5. 藻体全体が斑点と穴に被われ、製品にならない。

図3 斑点性先腐れ症の進行段階

(2)養殖施設改良試験

福岡湾口東部漁場における養殖水深は通常1.5～2mである。近年は光量不足が原因とおもわれる生育不良がみられていることから、当漁場における適正な養殖水深について再検討した。

試験は、図1のA点において養殖水深を0、0.5、2、4mの4段階に設定して長崎県島原産種苗を用いて養殖し、随時藻体を採集して生育状況及び罹病状況を調査する方法で行った。

結果及び考察

1. 養殖ワカメ生育状況調査

Stn.1～6における全長の推移を図4、重量の推移を図5に示した。

生育状況を全長及び重量の推移から判断すると、湾奥側に位置するStn.1とStn.2では養殖開始期から他の調査点に比べて生育が著しく悪く、平均全長はピーク時の1月下旬でさえ40～45cmにとどまり、その後は減少に

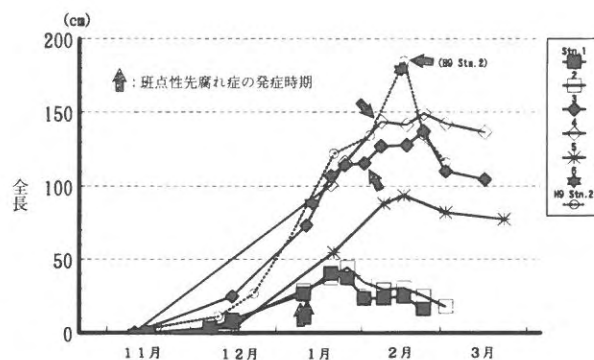


図4 養殖ワカメの全長の推移

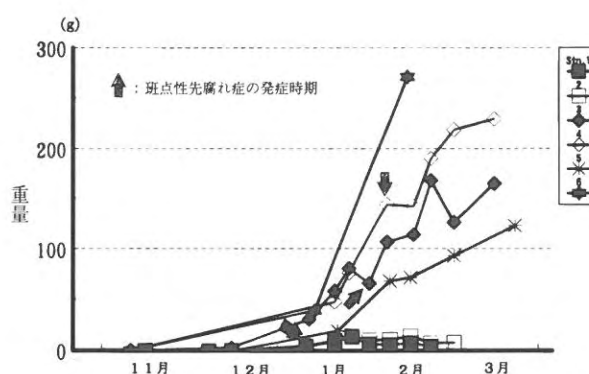


図5 養殖ワカメの重量の推移

転じた。また、重量も他の調査点を大きく下回っていた。一方、Stn.3でのピーク時の全長は137cm、Stn.4では149cmで、9年度のStn.2の値をやや下回るものの、比較的順調な生育であったといえる。

外海に面した漁場であるStn.5のピーク時の全長は94cmで、Stn.3とStn.4に比べて劣ってはいるものの、9年度の同地点での結果と同等であり、例年並の生育だったといえる。

また、福岡湾口西部漁場のStn.6でも、ピーク時の全長は172cmと、これも9年度の同地点での結果と同等であり、例年並の生育であった。

なお、Stn.2とStn.5で全長がピークを過ぎて減少に転じた後も重量が増加し続けているのは、末枯れ等による先端部の流失量以上に葉幅方向への生長量及び成実葉の生長量が大きく上回っていたことを示している。

Stn.1～4における斑点性先腐れ症の進行段階の推移を図6に示した。進行段階は、調査個体中で最も頻度が高かった段階とした。なお、Stn.5及びStn.6では例年どおり斑点性先腐れ症の発症は確認されなかった。

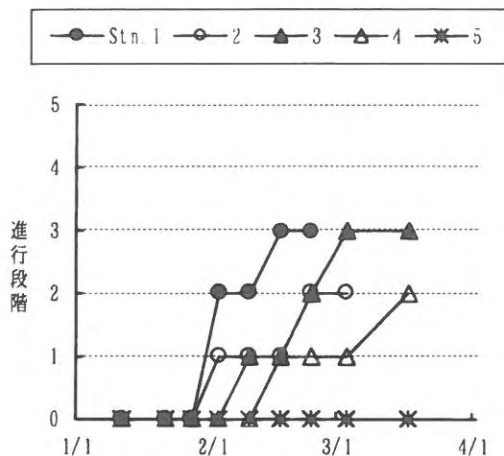


図6 養殖ワカメの斑点性先腐れ症の進行段階の推移

Stn.1では、1月11日に斑点性先腐れ症の発症を初めて確認した。その後、2月16日に進行段階3に至っており、調査点中で最も早い時期に症状が確認され、また、その進行が最も速かった。症状の進行の影響により、前述のように1月下旬以降は全長が減少に転じており、生産者はStn.1の漁場では摘採の見込みがないと判断して2月下旬に当漁場における養殖を中止している。

Stn.2では、Stn.1と同じく1月11日に発症を初めて確認したが、症状の進行はStn.1に比べて遅かった。しかしながら養殖開始期から生育が悪かったことが影響し、生産者はStn.2の漁場についても摘採の見込みがないと判断して3月上旬に養殖を中止している。

Stn.3では2月2日に発症を確認した後、3月3日に進行段階3まで進行し、Stn.4では2月8日に発症を確認した後、3月17日に進行段階2に進行していた。これらの漁場では生育が比較的良好であったため、摘採は可能であった。

これらのことから、福岡湾口東部漁場においては、湾奥側漁場ほど斑点性先腐れ症が早期に発症し、湾奥側から湾口側へと順を追って発症する漁場が拡大していくこと、また、湾奥側漁場ほど症状の進行が速いことが確認された。

また、斑点性先腐れ症の発症がありながら、摘採状況は漁場によって大きな差がみられた。Stn.3では、進行段階3まで進行したにもかかわらず、一定量の摘採ができていた。Stn.1、2と異なり摘採が可能だったのは、症状が大きく進行した2月中～下旬に、藻体がすでに全長141～149cm、重量131～190gと摘採可能なサイズに生長していたからである。Stn.3における生育は、前述したように養殖開始期からStn.1、2を大きく上回っ

ており、その要因としては、Stn.1、2とは養殖開始期が異なることや漁場環境の影響が挙げられる。Stn.3の養殖開始日はStn.1、2よりも5～9日も早かったが、養殖開始時期がその後の藻体の生育に大きく影響することが知られていることから^{4) 5)}、養殖開始時期の違いが後述の漁場環境とともに生育に影響を及ぼし、結果的に隣接するStn.2とStn.3との生育状況、ひいては生産結果に大きな差が生じたものと考えられた。

2. 養殖技術改良試験

(1)産地別種苗養殖試験

各種苗の全長の推移を図7、重量の推移を図8、斑点性先腐れ症の発症段階の推移を図9に示した。

Stn.1～4において、島原産は湾奥側ほど斑点性先腐れ症の影響を早く、大きく受けて生育が悪かったのに対し、下関産は湾奥側も湾口側とほぼ同等の生長を示し、斑点性先腐れ症の症状が進行するまえに摘採可能サイズに達している。また、島原産に比べて全般的に斑点性先腐れ症の進行が緩慢であった。これらのことから、下関産は島原産に比べて福岡湾口東部漁場、特に湾奥側の漁場への適性が高いことがうかがえた。しかしながら、今回の試験では、種苗生産地の都合により、下関産の養殖開始期が島原産に比べて最大11日早く、両種苗間でみられた生育状況と罹病状況の差が、種苗の性質の違いによるものか、養殖開始期の違いによるものかは判断できない。この点については、今後、試験設定条件を整えた上で明らかにしていく必要がある。

志賀島産は3種苗のうちで、斑点性先腐れ症の影響が最も小さかったものの、生育は9年度の試験結果と同様に全ての調査点で低調であった。

各種苗の摘採期における養成ロープ1mあたりの着生重量を表1に示した。

志賀島産はStn.3を除いて0.8～1.3kg、下関産は8.1～11.3kgと養殖地点によってほとんど差がみられなかった。志賀島産が下関産を大きく下回っているのは、前述の両者の生育状況から判断して、着生密度の差ではなく調査時における藻体の大きさの差によるものと考えられた。

一方、島原産は、Stn.1～4において、湾口側のStn.4が12.2kgで最も良く、次いでStn.3、Stn.2、Stn.1の順で重量が小さくなっており、湾奥に位置する漁場ほど生産性が悪い傾向が認められ、生育状況及び罹病状況の傾向と一致した。

各種苗による養殖ワカメ成体の形質間比を表2に示し

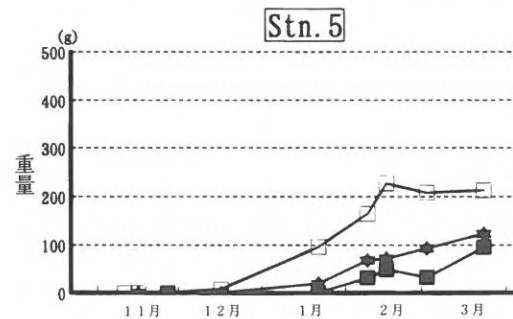
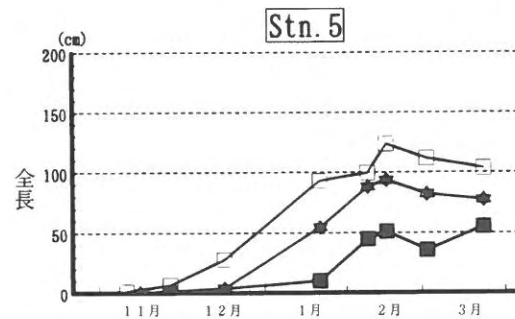
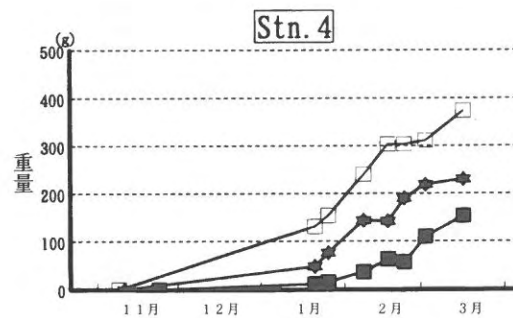
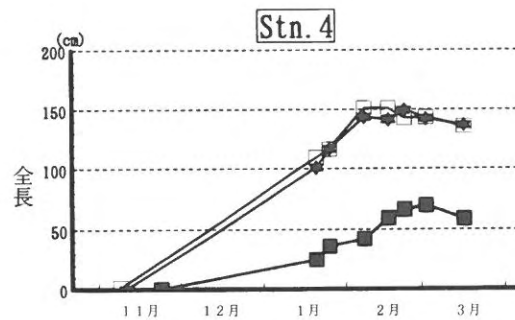
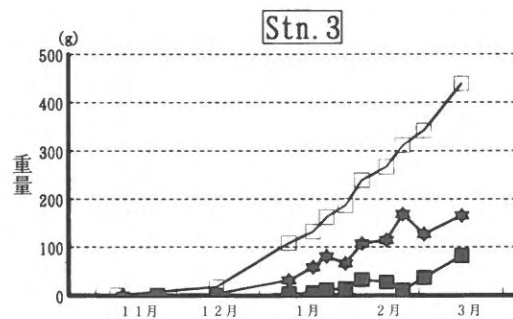
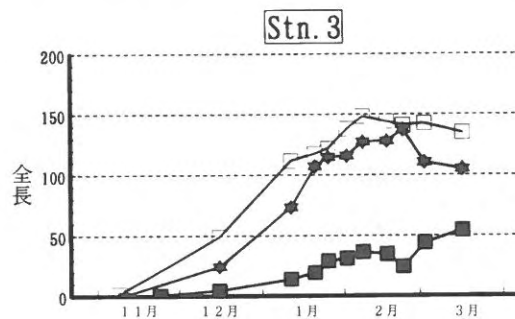
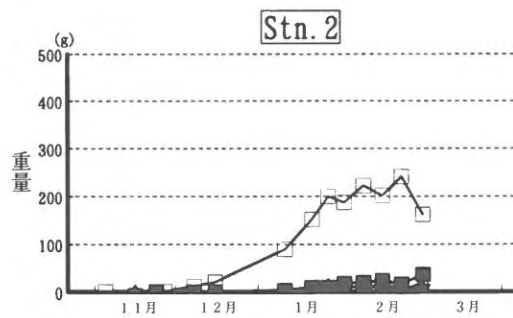
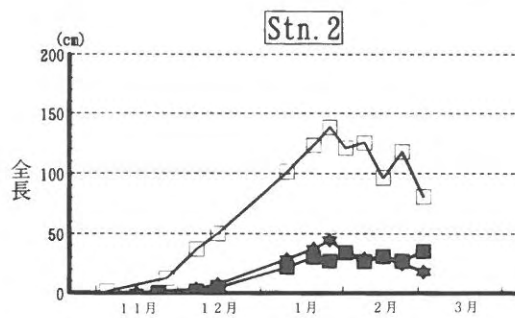
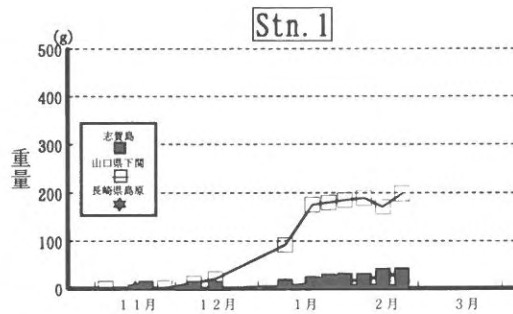
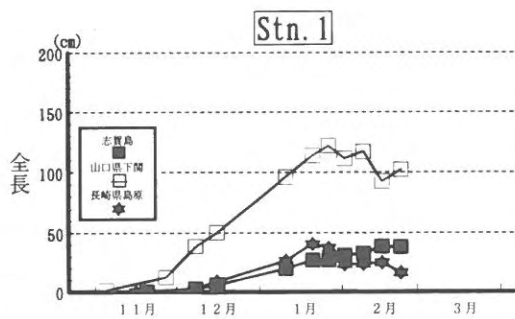


図7 各種苗の全長の推移

図8 各種苗の重量の推移

○ 志賀島 ▲ 山口県下関 * 長崎県島原

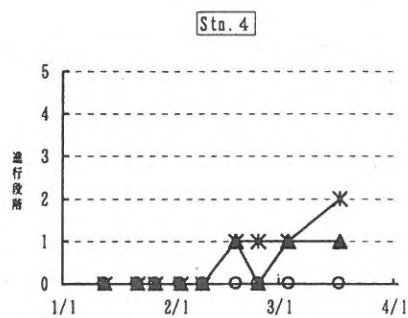
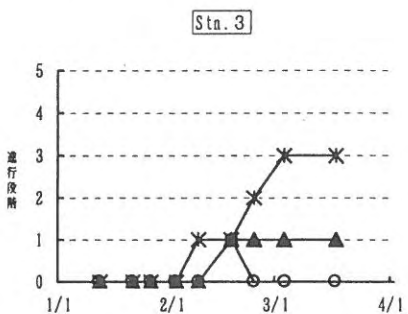
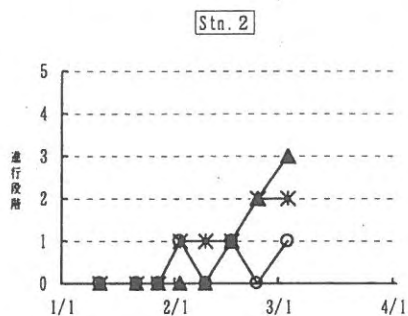
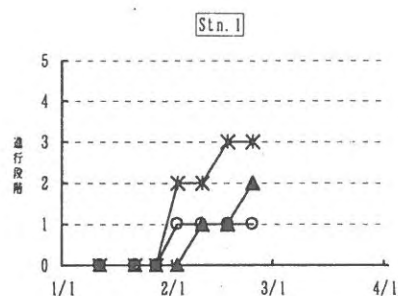


図9 各種苗の斑点性先腐れ症の進行段階の推移

た。

生産者が従来から用いている島原産を基準にして比較すると、下関産は、葉長/全長の値がやや高いものの、葉幅/葉長と欠刻幅/葉幅についてはほとんど差がなく、島原産と形態がきわめて類似していた。志賀島産は葉長/全長と葉幅/葉長が高い値を示しており、島原産

表1 摘採期における養成ロープ1mあたりの着生重量(単位: kg)

試験区	志賀島	山口県下関	長崎県島原
Stn. 1	1.3	9.8	0.1
2	0.8	11.3	0.2
3	0.3	9.4	8.3
4	1.2	9.8	12.2
5	1.2	8.1	5.0

表2 各種苗成体の形質間比

種苗産地	葉長/全長 (変動係数)	葉幅/葉長 (変動係数)	欠刻幅/葉幅 (変動係数)	重量g/全長cm (変動係数)
志賀島	0.89 (0.07)	0.75 (0.25)	0.20 (0.33)	1.58 (0.44)
山口県下関	0.76 (0.06)	0.58 (0.23)	0.22 (0.18)	1.58 (0.21)
長崎県島原	0.66 (0.10)	0.53 (0.30)	0.26 (0.29)	1.25 (0.28)

に比べて相対的に茎が短く、幅が広い形態を示していた。

Stn.1及びStn.5における藻体先端部の一般生菌数の推移を図10に示した。

斑点性先腐れ症の影響を最も大きく受けた島原産に着目すると、Stn.1では、斑点性先腐れ症の発症が確認された1月中～下旬に急激に 10^7 cells/gのレベルまで増加し、以降の症状が進行する期間中はこれと同レベルで推移した。一方、斑点性先腐れ症が発症しなかったStn.5では、2月9日を除いて $10^5 \sim 10^6$ cells/gの低いレベルで推移しており、Stn.1とStn.5とは明らかな差が認められた。したがって、斑点性先腐れ症の発症や症状の進行と細菌数には密接な関係があり、斑点性先腐れ症の発症には細菌が関与していることが示唆された。

また、培地上に形成されたコロニーの色調から、斑点性先腐れ症の発症前に藻体に付着していた細菌は、大きく分けて白色色素産生菌、黄色色素産生菌、橙色色素産生菌の3種であったが、発症後は、白色色素産生菌の割合が高くなる傾向が認められ、特定の菌が斑点性先腐れ症の発症に関与していることがうかがえた。このことについては、さらに詳しい調査が必要である。

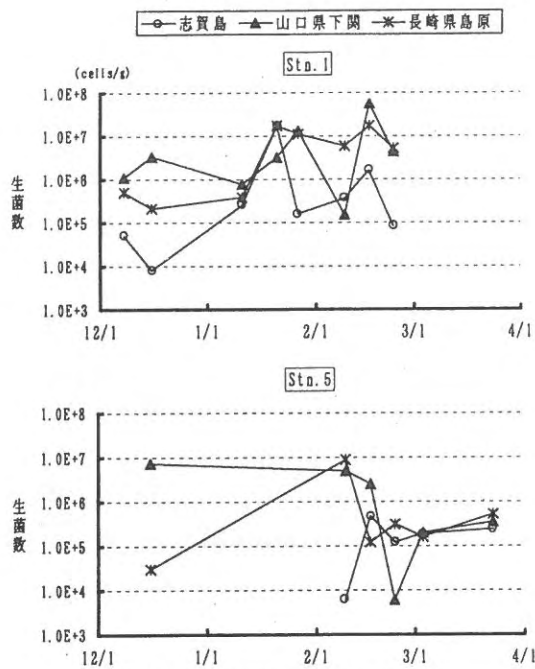


図10 藻体先端部の一般細菌数の推移

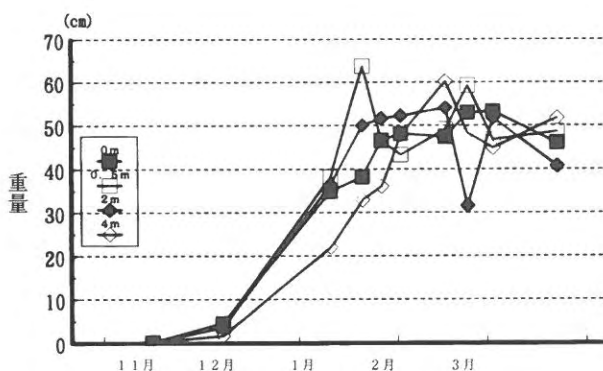


図11 養殖水深別のワカメ全長の推移

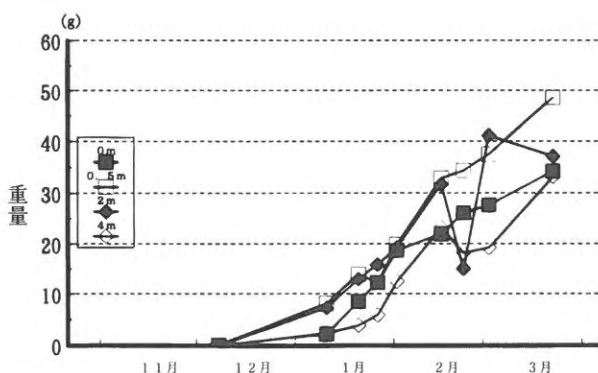


図12 養殖水深別のワカメ重量の推移

(2) 養殖施設改良試験

水深別のワカメの全長の推移を図11、重量の推移を図12に示した。

0.5m, 2m, 4mでは、水深が浅いほど生長が良い傾向にあったが、特に大きな差は生じなかった。また、藻体が受ける光量が最も大きいはずの0mでは、0.5mと2mよりも生長が劣ってその要因としては、波浪の影響が大きかったことが考えられる。

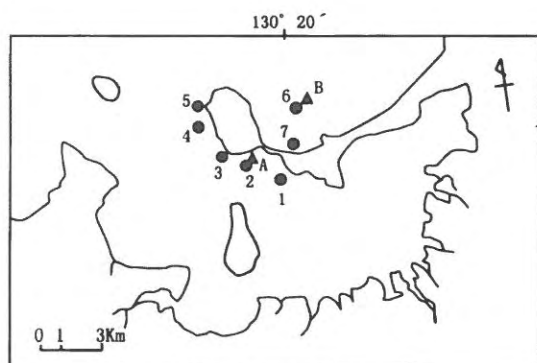
また、全ての水深において斑点性先腐れ症が発症し、水深によって発症時期や症状の進行速度に大きな差はみられなかったことから、養殖水深だけでは斑点性先腐れ症の影響を小さくすることは難しいと考えられた。

II 漁場環境調査

方 法

平成10年11月～11年3月にかけて、ワカメ漁場周辺の水質環境を把握するため湾内5点、湾外2点で毎月1～2回の水温、塩分、透明度等の定点観測を行った。さらに、湾内と湾外の各1点で2m深にそれぞれ潮流計、光量子計と濁度計を設置し、潮流、光量子量と濁度の連続観測を行った(図13)。

結果及び考察



● 1～6 : 定点観測点
▲ A～B : 潮流、濁度及び光量子観測点
図13 環境調査点

1. 定点観測

図14には各測定値の観測点別の変化を示した。湾内(Stn.1～5)と湾外(Stn.6, 7)の測定値には差がみられ、湾内に比べて湾外の海水は高水温・高塩分であり、濁りが少なく透明度が良く、有機物濃度が低いといえる。

湾内での各調査点間の変化をみると、水温と塩分には湾奥と湾口部で差がみられるが、他の測定項目には大きな差はみられない。そこで、湾内の代表点としてStn.1を、湾外の代表点としてStn.6での測定結果の時系列変化を図15に示した。ただし、時化等のため湾外のStn.6での観測には欠測がある。

水温、塩分、CODの値はワカメの生育に影響を及ぼさない範囲(6)にあった。透明度をみると湾外の値は湾内の値の約2倍程度であった。湾内での測定値の変化をみると1月12日の観測値が7mと高い値であったのを除くとほぼ4m前後の値で推移しており、この値はワカメの養殖水深(2m)よりも深い。前述したように湾外の環境は湾内のそれと比べると、高水温・高塩分で、透明度が良く、有機物濃度が低いといえる。

2. 連続観測

潮流調査は平成10年11月11日～平成11年3月9日に実施した潮流結果を図16に示した。なお、湾外調査においては1月20日以降は機器の不調により欠測となった。

流向は、湾内・湾外とも東西方向の流れが卓越していた。実測値の最大流速は湾内漁場で0.75ノット、湾外漁場で1.66ノットであり、最大流速では湾外漁場のほうが強かったが、平均流速では湾外漁場が0.13ノットであるのに対し、湾内漁場が0.16ノットであり湾内漁場のほうが強かった。

光量子量:平成10年11月12日～11年3月8日のワカメ漁場での光量子量とその間の気象要素の変化を図17に示した。ワカメ生育に必要とされる $80 \mu E/m^2/s^6$ を下

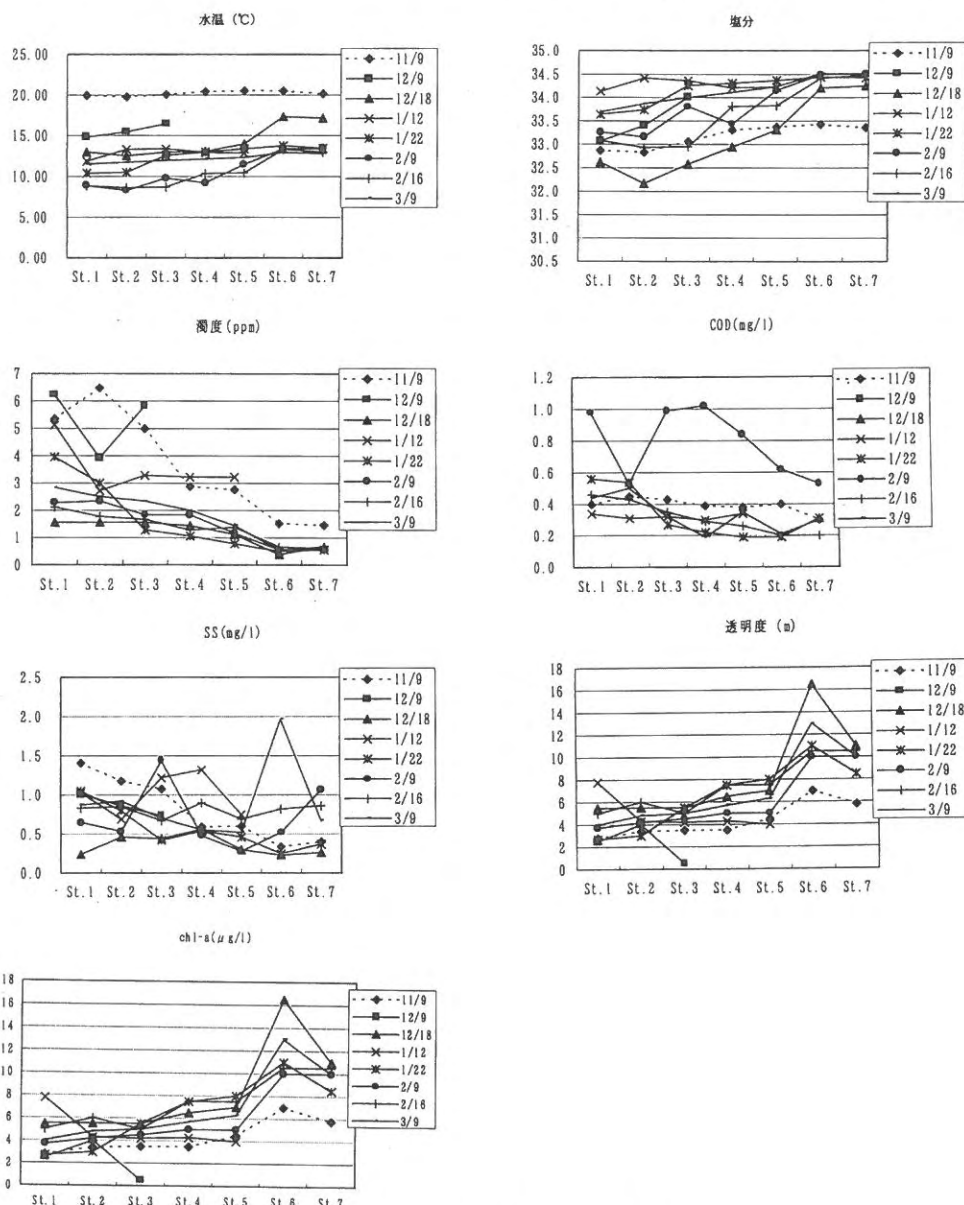


図14 調査点別の変化(Stn.1～5:湾内,Stn.6,7:湾外)

回る日は、湾内漁場で11月30日、1月19日、2月3日、2月18日、2月24日、2月26日、3月7日で2月の中旬から下旬にかけて多い傾向にあり、機器交換日を除く全116日の観測期間中に $80 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ を下回る日の出現率は6%、湾外漁場で $80 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ を下回る日は11月30日、2月18日であり $80 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ を下回る日の出現率は2%であった。また、30分毎の積算値(11/12~3/8、機器交換日の12月18日を除く)は湾内で276, 903 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ 、湾外で444, 399 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ であり、湾内での光量子量は湾外のその約62%であった。湾内漁場、湾外漁場及び日射量の変動は平行に変動しており、漁場内の光量子量の変化は基本的には日射量の変化に依存していると推察され、湾内漁場で光量子量が $80 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ を下回った日はいずれも天気が雨または曇りで、日射量の少ない日であり、風の強い日であった。しかし、外海漁場では

透明度が湾内漁場の約2倍と高かったため、 $80 \mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$ を下回った日の出現率が低くなった。

濁度：平成10年11月11日~11年1月28日のワカメ漁場での濁度の変化を図18に示した。なお、1月29日以降は観測機器の不調により欠測となった。

濁度が高くなる日は、湾内漁場と外海漁場ともほぼ同時期に出現しており、気象データと比較すると風速が強い日に濁度が高い傾向となっている。また、濁度のピークは外海漁場に比べ湾内漁場の方が高くなっている。なお、湾内漁場での12月18日のピークは機器の交換によるものである。また、荒天日以外の通常日の濁度は、湾内漁場が4~6ppm、外海漁場が1~2ppmであり、定常的に湾内漁場の方が濁度が高い傾向にあった。

平成9年度の調査では、光量子量の連続観測結果と発症状況から判断して、海水中の濁りが斑点性先腐れ症の

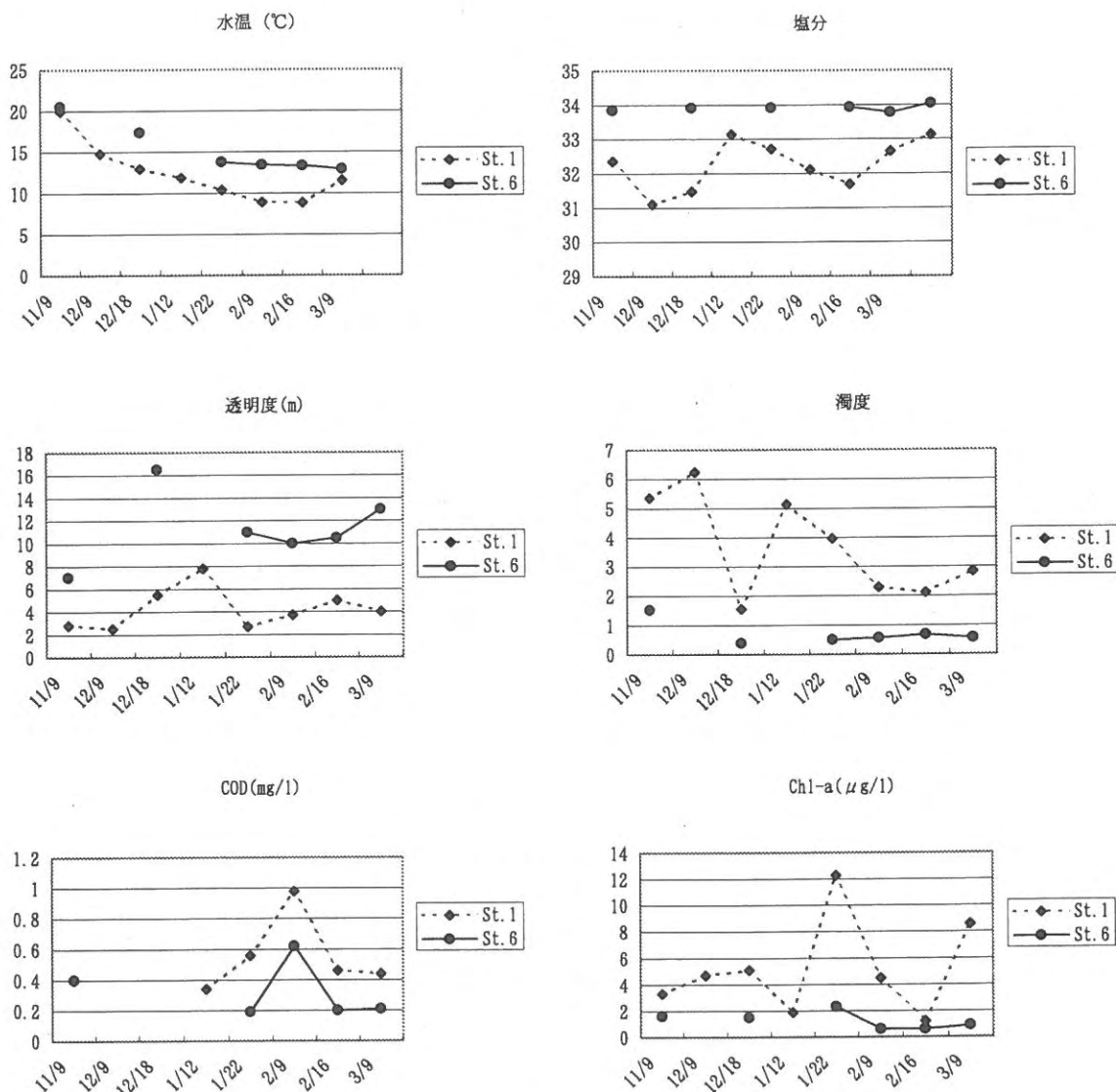


図15 湾内(Stn.1)と湾外(Stn.6)の各測定結果の変化

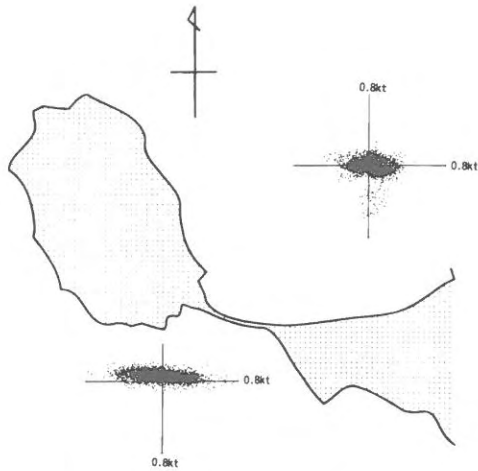


図16 実測流の散布図(H10.11.**~H11.2.*)

発症の要因になっていると推察されたが⁷⁾、今年度の発症時期の前後には、湾内の調査点において光量子量の極度な低下はみられず、また、濁度観測機器の不調もあり、海水中の濁りと斑点性先腐れ症の発症の関係を明らかにすることはできなかった。この点については、今後も引き続き調査を行って明らかにしていく必要がある。

3. 3年間の比較

ワカメ漁場での観測には欠測が多かったため、ここでは湾内で実施されている赤潮調査の湾奥での資料を整理し図19に示した。ただし、9年度の1月は欠測となっている。

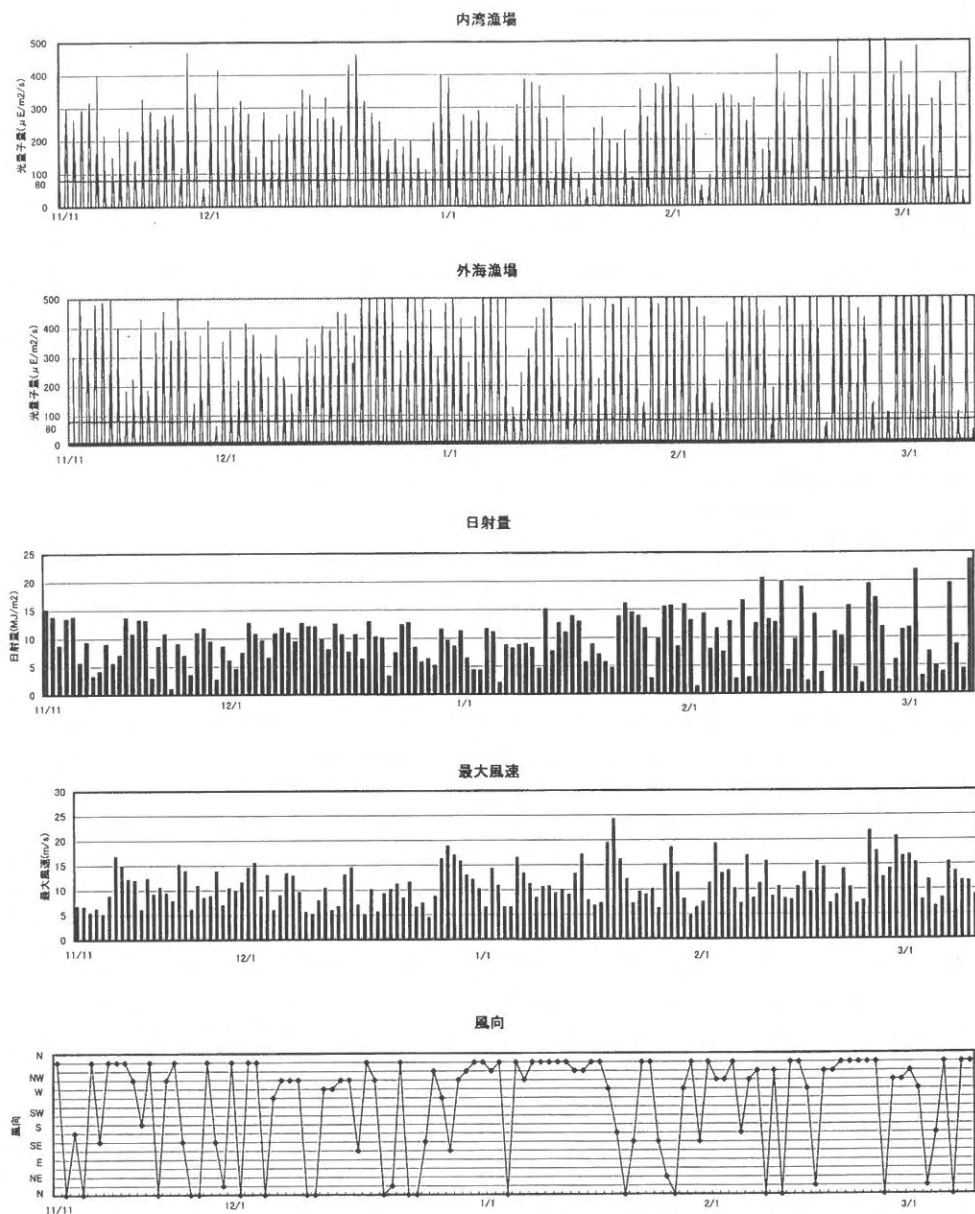


図17 光量子量及び気象要素の変化

10年度の値を過去2年間の結果と比較すると、水温は3月に低め、塩分では11月、12月に低く、透明度は11月～1月に低かった。栄養塩濃度(DIN)は1月、2月に低い傾向がうかがえた。

10年度の特徴としては、高水温、低温分であり、透明度がやや悪く、栄養塩濃度が低かったといえる。

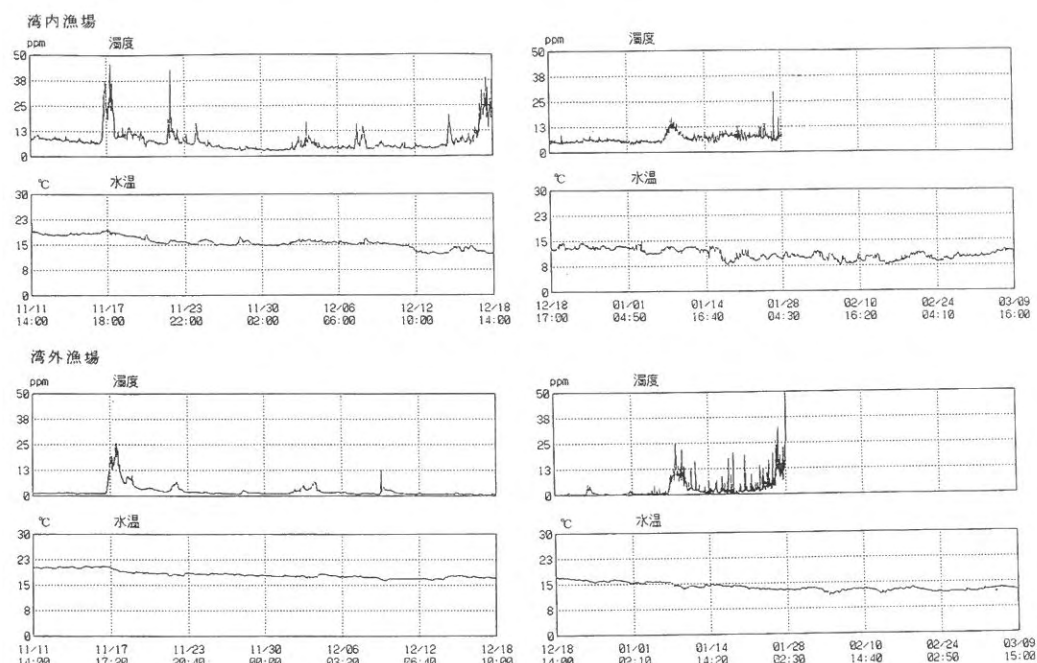


図18 濁度と水温の変化

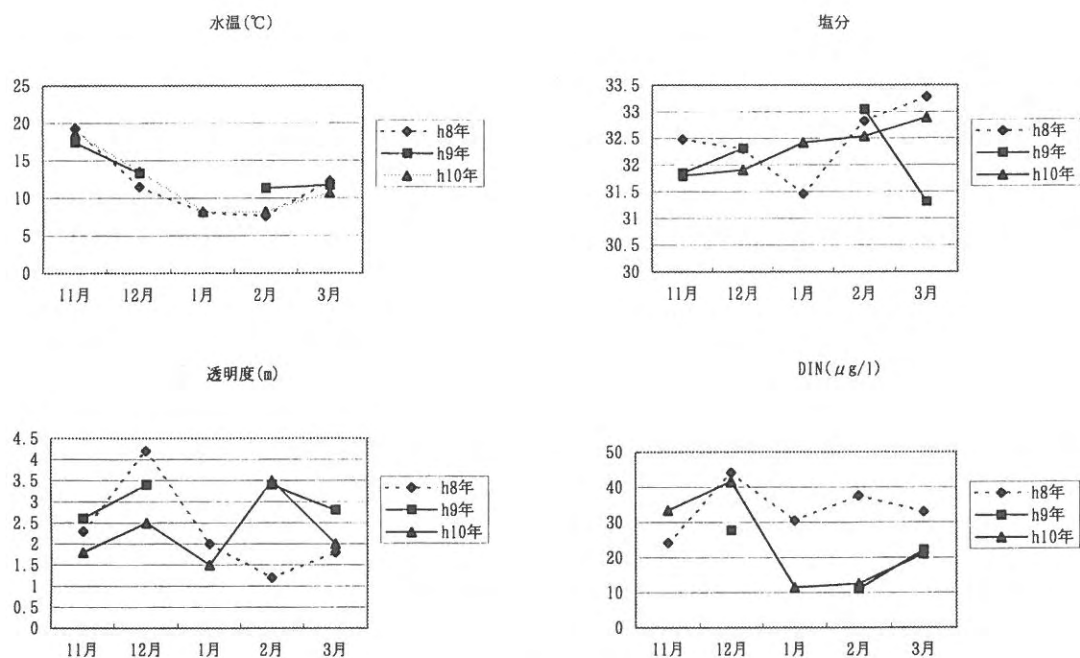


図19 年度別変化(湾奥部)

文 献

- 1) 篠原直哉・大村浩一・内場澄夫・本田清一郎：福岡湾におけるワカメ養殖の不調について，平成7年度福岡県水産海洋技術センター事業報告，105-111（1996）
- 2) 篠原直哉・大村浩一・太刀山透・深川敦平・稲田善和・本田清一郎：福岡湾におけるワカメ養殖について，平成8年度福岡県水産海洋技術センター事業報告書，43-49（1997）
- 3) 岩手県水産技術センター：養殖ワカメ病虫害写真集，13pp（1994）
- 4) 斎藤雄之介：ワカメの養殖，水産増養殖叢書，水産資源保護協会，40pp（1964）
- 5) 秋山和夫・松岡正義：浅海養殖，ワカメ，大成出版，541-566（1986）
- 6) 水産資源保護協会：環境が海藻類に及ぼす影響を判断するための『判断基準』と『事例』，104pp（1994）
- 7) 福澄賢二・池内仁・太刀山透・深川敦平・筑紫康博・杉野浩二郎・神園真人：ワカメ養殖安定生産技術開発事業，平成9年度福岡県水産海洋技術センター事業報告，142-150（1997）

地域先端技術共同研究開発促進事業

DNA解析等によるアマノリ品種の系統群の識別技術の開発

岩淵 光伸・淵上 哲

I DNA抽出技術の検討

1) 葉体からのDNA抽出技術の検討

(1) ISOPLANTによる葉体からのDNA抽出技術の検討

ISOPLANTを使用して純度の高いDNAを効率よく抽出するためのサンプルの前処理法について検討した。

材料および方法

実験1

有明海福岡県地先で野外採苗、育苗管理ののち冷凍入庫した養殖ノリ(品種名: FA89 スサビ系)を滅菌海水中で解凍後、網糸から外した葉体を使用した。ろ紙で水分を取り除き、湿重量約0.02 gを秤量して4本の1.5mlチューブに入れた。4本のチューブはそれぞれ、無処理、はさみで細切、1.0%パパイイン溶液30分と0.1%アルカリヘミセルラーゼ溶液1時間処理、および液体窒素による凍結破砕の4試験区とし、それぞれの処理後はプロトコールにしたがってISOPLANT処理を行った。PCI処理は複数回行い、アガロースゲルで泳動ののちエチジウムブロマイドで染色観察した。

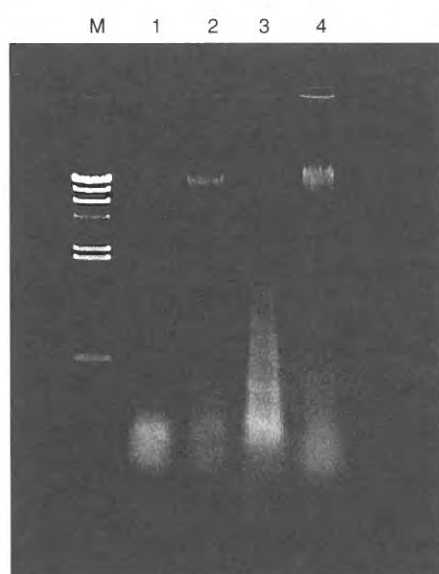


図1 異なるISOPLANT 前処理を行なった葉体抽出DNA M:マーカー (λ -Hind III) 1:無処理 2:ハサミで細切 3:パパイイン・アルカリヘミセルラーゼ処理 4:液体窒素破砕

実験2

カキ殻系状体から放出した殻胞子をクレモナ糸に付着させて室内培養を行った福岡1号とFA89の葉体各5個体を使用した。葉長の大きな葉体は上下に2等分してその一方を使用し、1個体ずつ1.5mlチューブに入れた。湿重量は最少0.02 gから最大0.13 gであった。パパイインとアルカリヘミセルラーゼ(濃度パパイイン0.8%・AHC0.08%)を混合した溶液を500 μ l添加し、温度25℃の恒温室に静置した。2時間経過後、15,000gで5分間遠心して上澄みを捨て、ISOPLANTによる処理を行った。

実験3

実験2で2等分した葉体の残り、福岡1号5個体とFA89 1個体を使用した。湿重量は最少0.025 g最大0.1 gで、サンプルを1.5mlチューブに入れたのちISOPLANTのSolution Iを300 μ l添加してはさみで細切し、その後はプロトコールにしたがって処理を行った。

結果および考察

実験1

泳動像を図1に示した。はさみで細切した区および液体窒素で破砕した区からはDNAの濃いバンドが認められた。しかし、無処理区およびパパイイン・アルカリヘミセルラーゼ処理区はごく薄いバンドしか認められなかった。特にパパイイン・アルカリヘミセルラーゼ処理区ではRNAと考えられる濃いバンドが検出された。

実験2

RNase処理前の泳動像と処理後の泳動像を図2に示した。DNAと考えられるバンドは濃く認められるが、RNAと考えられるバンドも非常に濃く認められた。またDNAバンドが明瞭でなく大量の多糖類の混入が疑われるレーンがアルカリヘミセルラーゼ処理によってプロトプラスト化細胞が多く作出されたFA89で認められた。RNase処理後はDNAのバンドのみが認められ、比較的純度の高いDNAが得られたものと考えられた。

実験3

泳動像を図3に示した。全てのサンプルでDNAの濃

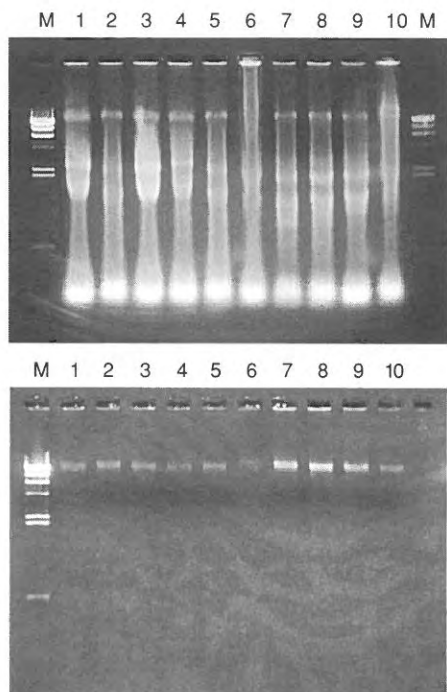


図2 パパイン・アルカリヘミラーゼ処理後にISOPLANT処理で抽出した葉体DNA
上はRNase 処理前, 下はRNase 処理後
M: マーカ (λ-HindⅢ) 1~5: 福岡1号 6~10: FA89

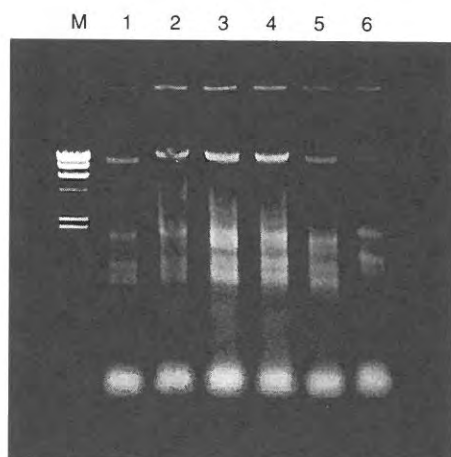


図3 ハサミで細切後にISOPLANT 処理を行なった葉体抽出DNA M: マーカ (λ-HindⅢ)
1~5: 福岡1号 6: FA89

いバンドが認められた。またRNAは認められたが、実験2で見られた大量の多糖類混入によると考えられる像の乱れは認められなかった。

以上のISOPLANTによる抽出試験の結果を泳動像から判断すると、最も不純物の少ない良好なDNAが抽出できるのは、Solution I を添加したのちハサミを使って葉体を細切する方法であった。それに対して、アルカ

リヘミセルラーゼ処理により細胞壁をある程度消化してからISOPLANT処理した場合には、多くのDNAを得ることは可能だが、RNA、タンパク質、多糖類の混入も多くなりかえって良くなかった。大量のDNAを得ることはできないが、RAPD法やAFLP法あるいはダイレクトシーケンシング法など微量のDNAしか必要としないPCRを利用した解析法には、ISOPLANTによるDNA抽出が有効であると判断された。

2) 糸状体からのDNA抽出技術の検討

ISOPLANTを用いた糸状体からのDNA抽出について検討した。

(1) ISOPLANTによる糸状体からのDNA抽出技術の検討

昨年度の結果から、糸状体からもISOPLANTを使用してDNAが抽出できることが明らかとなった¹⁾。そこで、より純度を高める抽出法について調べた。

材料および方法

珪藻類、藍藻類の混入が無いことを顕微鏡観察によって確認したフリー糸状体を材料にISOPLANTによるDNA抽出を試みた。抽出を行った品種は有明海研究所で継代培養しているナラワ緑芽、ナラワ赤芽、福岡1号それにオオバアサクサである。フリー糸状体は蒸留水でよく洗浄し、ろ紙で水分を取り除いて1.5mlチューブに入れた。湿重量は約0.01gから0.04gの範囲であった。チューブに入れた糸状体は、ハサミで細切しISOPLANTのプロトコールにしたがって処理を行った。計6回の抽出実験を行い、抽出したDNAの質を電気泳動によって判断した。

結果および考察

計6回の抽出を試みた。うち葉体から抽出したDNAと同時に泳動したときの泳動像を図4に示した。すべてのサンプルにおいて非常に濃いDNAのバンドが認められ、純度も高いものと考えられた。またサンプルによって抽出DNAの量に差が認められる葉体と比較してサンプル間の差も少ないことが分かった。

抽出したいずれのサンプルからもほぼ良好なDNAを抽出できた。葉体と糸状体から抽出されたDNAのA260/280の値やアガロースゲル泳動像から判断して、DNA抽出量、純度ともに糸状体の方がすぐれており、また抽出操作ごとに得られるDNAの質、量の差も小さいことが分かった。

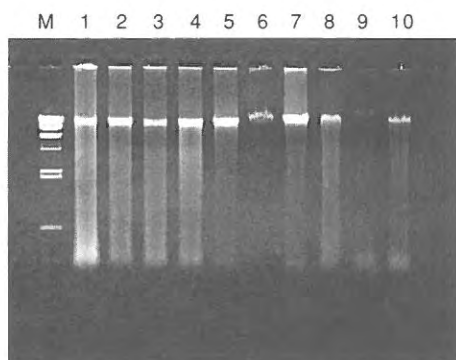


図4 ISOPLANTによるフリー系状態と葉体からのDNA抽出
1~4:フリー系状態 5~10:葉体
M:マーカー (λ-HindⅢ) 1・5・8:福岡1号
3・7・10:ナラワ緑芽 4:オオバアサクサ

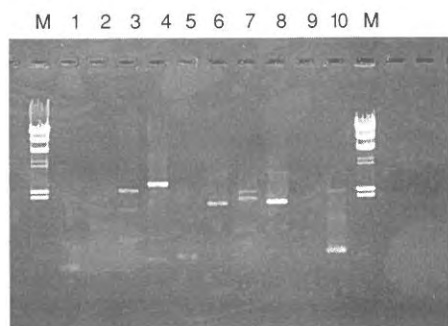


図5 オペロンランダムプライマーセットKIT BによるRAPD
増幅バンド
M:マーカー (λ-HindⅢ)

II DNA解析技術の検討

1) RAPD法の検討

RAPD法により多型性を検出して品種判別を行うため、ランダムプライマー、Taqポリメラーゼ、PCR条件およびDNAの精製について検討を行った。また、実際にRAPD解析を行って、品種の判別を試みた。

(1)ランダムプライマーの検討

オペロン社製プライマーセットKIT Bの中から複数の

バンドが検出されるプライマーを検索した。

材料および方法

ナラワ緑芽のフリー系状態からISOPLANTを使用して抽出したDNAを実験に供した。PCR反応液は全量を25μlとし、プライマー0.5μM、dNTP0.2mM、Taqポリメラーゼ(AmpliTaq)0.625U、鋳型DNA50ngとなるように調整した。反応条件は92℃1分、35℃1分、72℃2分を1サイクルとし45サイクルとした。反応液5μlを1.0%TAEアガロースゲルで泳動後、エチジウムブロマイド染色を行って観察した。

結果および考察

KIT Bのすべてのプライマーの泳動結果を図5に示した。複数のバンドが認められたのはNo.3・4・7・10・11・12・13・14・15・17・18・19・20の13プライマーであった。この中から、NO.11以降の9プライマーを使用して品種判別を試みることにした。

(2)Taqポリメラーゼとアニーリング温度の検討

RAPDフィンガープリントパターンはTaqポリメラーゼが違って異なる可能性があることからアニーリング温度と併せて調べた。

材料および方法

FA89のフリー系状態および葉体からISOPLANTを使用して抽出したDNAを使用してAmpliTaq (パーキンエルマー社)とTaKaRaTaq (宝酒造社)の2種のTaqポリメラーゼの比較を行った。プライマーはOPB-15を用い、反応液組成、容量は前記と同一とした。反応条件はアニーリング温度のみを35℃、37.5℃、40℃、42.5℃の4段階に設定し、その他は前記と同一とした。

結果および考察

各アニーリング温度別の泳動結果を図6に示した。アニーリング温度37.5℃においては、AmpliTaqとTaKaRaTaqの間で検出されるバンド数とバンド濃度に違いを認めたが、明瞭なバンドに限れば違いは認められなかった。他のアニーリング温度では系状態、葉体のどちらかで検出されるバンドに違いが認められた。

また同じTaqポリメラーゼにおいてアニーリング温度別に見てみると、AmpliTaqではアニーリング温度37.5℃と40℃のバンドが一致し、35℃では葉体のバンドが、42.5℃では系状態のバンドが他の温度のもの

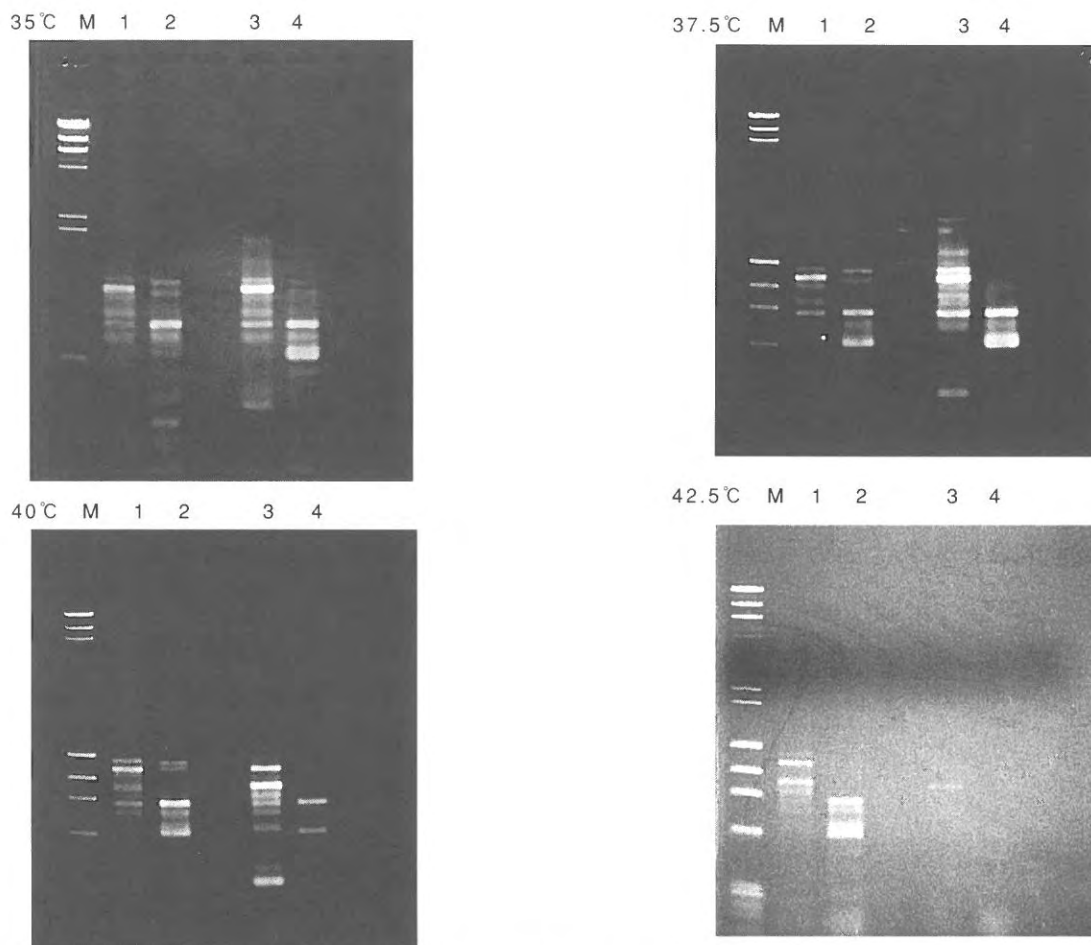


図6 異なるTaqポリメラーゼとアニーリング温度によるRAPD増幅バンド
M:マーカー (λ-HindⅢ) 1:AmpliTaq 糸状体DNA 2:AmpliTaq 葉体DNA
3:TaKaRaTaq 糸状体DNA 4:TaKaRaTaq 葉体DNA

異なった。TaKaRaTaqでは35℃と37.5℃のバンドが糸状体、葉体ともに一致したが、40℃では糸状体のバンドがやや異なり、42.5℃ではバンドそのものが認められなかった。

42.5℃を除いて、検出されたバンド数はTaKaRaTaqの方が多かった。

この結果より、AmpliTaqとTaKaRaTaqを比較すると、TaKaRaTaqの方が多くのバンドが検出されて増幅効率はやや高くすぐれていた。しかしRAPDマーカーを得る目的であればどちらも使用可能であると考えられた。ただアニーリング温度は35℃または37.5℃に設定した方が良いと判断された。いずれにしても、条件のわずかな違いで泳動像に違いが認められたことから、RAPD処理を行なうためには、常に同一の条件で反応を行うように注意することが重要であると考えられた。

(3)PCR条件の検討

材料および方法

PCRの反応条件について図7に示す2条件を比較し

た。材料はスサビ、ナラウスサビ、福岡1号、ナラウ緑芽の糸状体からISOPLANTを使って抽出したDNAを使用した。プライマーはOPB-11、TaqポリメラーゼはAmpliTaqを使用し反応液組成はII-1)-(1)と同様とした。

結果および考察

各品種の電気泳動パターンを図8に示した。ナラウ赤芽とオオバアサクサの泳動パターンは大きな違いが認められ、条件Bでは得られた増幅産物が非常に少なかった。その他の品種では、RAPDマーカーとして検出される明瞭なバンドについてはどちらの条件でも多くが一致したが、泳動パターンが全く一致した品種はなかった。すなわち不明瞭なバンドの数は条件Aの方が多く、非特異的なバンドの増幅が多かったことが推察された。

また、調査した7品種間で泳動パターンが一致したものではなく、多型性が認められた。このことから、品種識別に必要な多型性を検出するためにはどちらの条件でも良いことが判明した。今後はPCR条件と再現性についての検討が必要である。

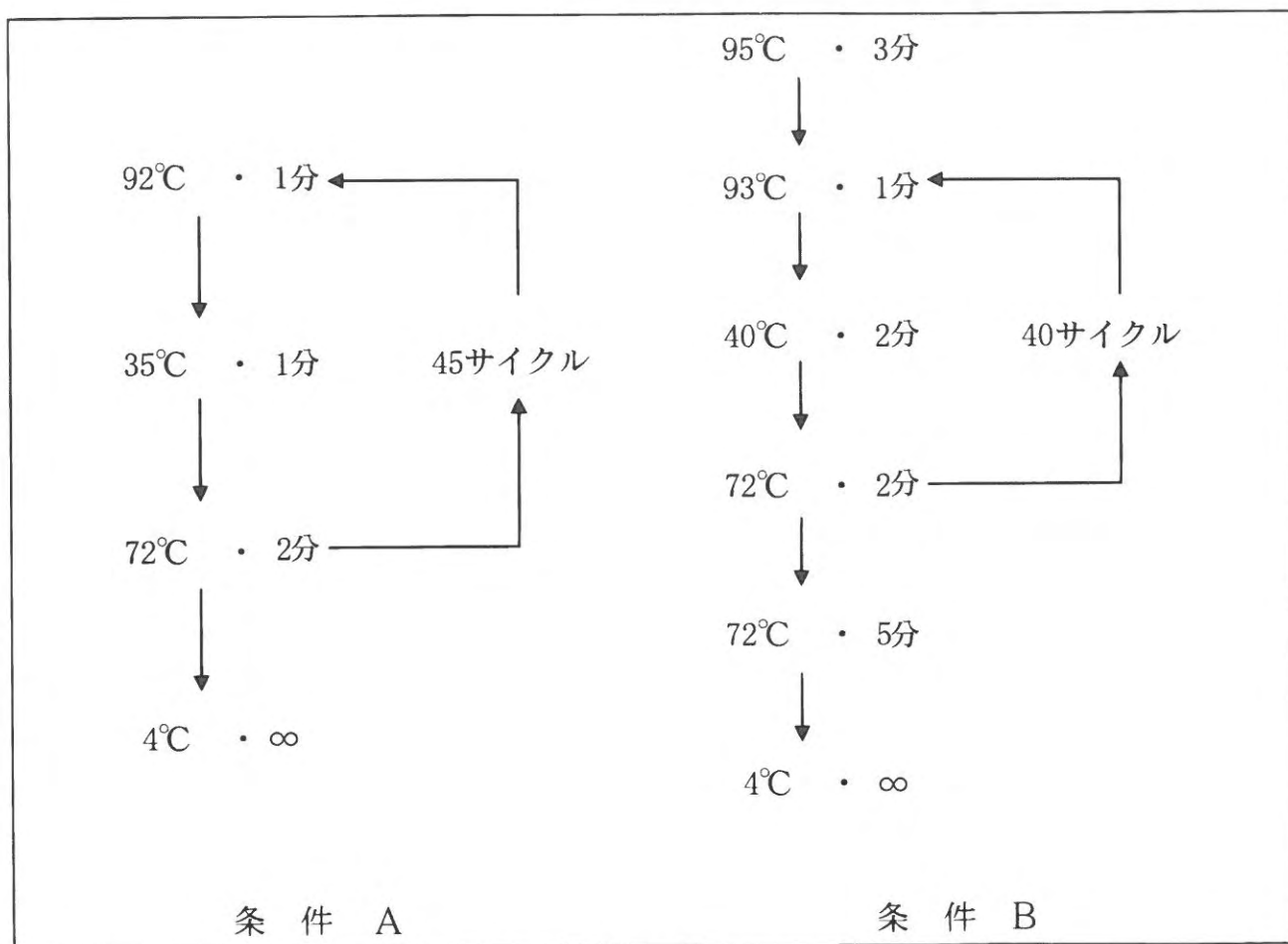


図7 RAPD反応におけるPCR条件の比較

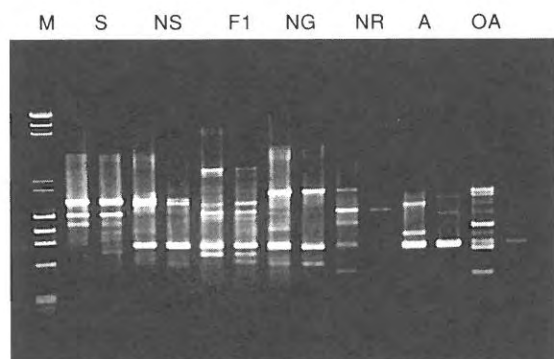


図8 異なる条件で処理した品種別のRAPD増幅パターン
各品種のうち左レーンは条件A, 右レーンは条件B
M:マーカー (λ-HindⅢ+φ X174-HaeⅢ) S:スサビ
NS:ナラワスサビ F1:福岡1号 NG:ナラワ緑芽
NR:ナラワ赤芽 A:アサクサ OA:オオバアサクサ

(4)DNA精製の検討

市販のDNA精製用使い捨てカラムを用いて抽出DNAを精製し, RAPDフィンガープリントの結果に差が生じるか調べた。

材料および方法

ISOPLANTで抽出した系状体および葉体DNA(品種名

FA89) をキアゲンカラム (tip20) で精製した。精製DNAと未精製DNAはプライマーOPB-15, TaqポリメラーゼTaKaRaTaqを用いてアニーリング温度40℃でPCR反応を行い, 電気泳動像を比較した。

結果および考察

未精製DNAと精製DNAのPCR産物の電気泳動像を図9に示した。系状体DNAの泳動パターンは一致したが, 葉体DNAには違いが認められた。葉体DNAでは精製したDNAの方が未精製DNAよりもバンドが少なくなった。

DNAを精製することによってより長鎖の増幅産物を得られることが期待されたが, かえってバンドが減少する結果となった。しかし, キアゲンカラムは超遠心による精製と同程度の効果があると言われており²⁾, 再現性の向上が期待されることから来年度以降さらに検討を加えたい。

(5)RAPD法による品種別多型性の検出

実際に複数のプライマーを使用して7品種のRAPDフ

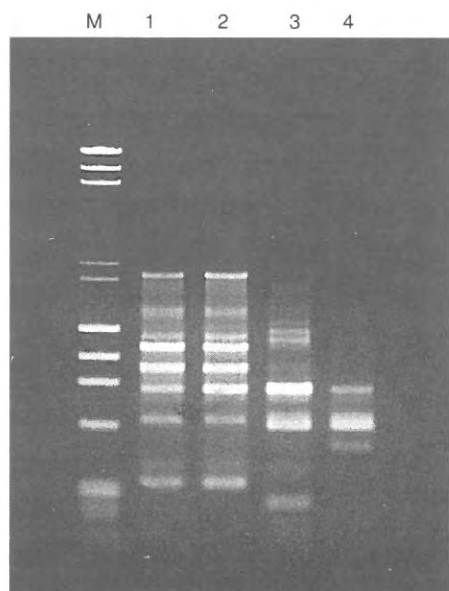


図9 キアゲンカラムで精製したDNAのRAPD増幅バンド
M:マーカー (λ-HindⅢ + φ X174-HaeⅢ)
1:未精製系状体DNA 2:精製系状体DNA
3:未精製葉体DNA 4:精製葉体DNA

インガープリントを検出し、品種の識別が可能かどうか調査した。

材料および方法

品種名スサビ、ナラワスサビ、福岡1号、ナラワ緑芽、ナラワ赤芽、アサクサおよびオオバアサクサのフリー系状体からISOPLANTによって抽出したDNAを材料にRAPD処理を行った。プライマーはOPB-11・12・13・14・15・17・18・19・20の9種類、TaqポリメラーゼはAmpliTaqを使用した。反応液は全量を25 μl、組成はプライマー0.5 μM、dNTP0.2mM、Taqポリメラーゼ0.625U、鋳型DNA50ngとした。処理条件は92℃1分、35℃1分、72℃2分を1サイクルとし45サイクルとした。1.5%アガロースゲルで電気泳動を行い、多型性が認められる明瞭なバンドをRAPDマーカーとして検出した。

結果および考察

図10に示したように、OPB-19におけるナラワ赤芽など特定のプライマーと品種の組み合わせによっては、PCR増幅産物が全く認められない場合があった。また、OPB-14におけるナラワ緑芽とアサクサなどバンドが一致する場合も認められたが、使用したすべてのプライマーで多型性を示すバンドを検出することができた。

各プライマーごとに認められた明瞭なバンドの中から、品種間で有無が認められるバンドのDNAタイピング結果を表1に示した。各プライマーで複数のマーカー

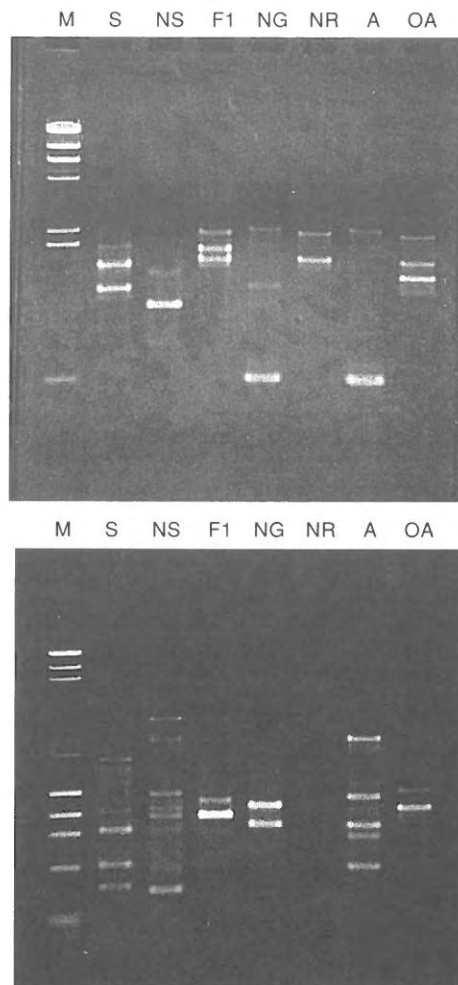


図10 品種別のRAPD増幅バンド
上はOPB-14、下はOPB-19を使用
M:マーカー (λ-HindⅢ + φ X174-HaeⅢ) S:スサビ
NS:ナラワスサビ F1:福岡1号 NG:ナラワ緑芽
NR:ナラワ赤芽 A:アサクサ OA:オオバアサクサ

表1 RAPDマーカーによる7品種のDNAタイピング

RAPDマーカー	S	NS	F1	NG	NR	A	OA
OPB-11a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-11b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-11c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-11d	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12d	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12e	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12f	+	+	+	+	+	+	+
OPB-12g	+	+	+	+	+	+	+
OPB-13a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-13b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-13c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-13d	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14d	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14e	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14f	+	+	+	+	+	+	+
OPB-14g	+	+	+	+	+	+	+
OPB-15a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-15b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-17a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-17b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-17c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-17d	+	+	+	+	+	+	+
OPB-17e	+	+	+	+	+	+	+
OPB-18a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-18b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-18c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-19a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-19b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-19c	+	+	+	+	+	+	+
OPB-20a	+	+	+	+	+	+	+
OPB-20b	+	+	+	+	+	+	+
OPB-20c	+	+	+	+	+	+	+

S:スサビ NS:ナラワスサビ F1:福岡1号 NG:ナラワ緑芽
NR:ナラワ赤芽 A:アサクサ OA:オオバアサクサ
+:RAPDマーカー有

が検出されたことから、データを蓄積することによって品種の識別や系統解析も可能であると考えられた。

以上RAPD法に関して多くの実験を行ない種々の条件について検討した。RAPD法自体が抱えている問題であるが、その再現性は低く、特に粘質多糖類の混入が著しいノリDNAの場合、同じ材料同じ条件でRAPD処理を行なっても泳動パターンが一致することの方が珍しい状況であった。しかし、RAPD法にはPCR装置さえあれば実験可能であるという大きな利点があり、再現性を高めるためのDNA精製法とPCR条件の検討に時間をかける価値は十分にあると考えられ、今後の重要な課題である。

また、かなり面倒ではあるが、同条件の実験を複数行なって検出される再現性の高い明瞭なバンドのみをRAPDマーカーとし、品種の識別も可能となるのではないだろうか。

2) AFLP(Amplified Fragment Length Polymorphism)法の検討

AFLP解析はPCRにより増幅された制限酵素断片の長さの違いを検出する手法で、解析に使用するDNAサンプルがごく少量で良く、断片の検出に蛍光DNAシーケンサーを使用すると1回の解析で数十から百程度のDNA断片を解析できる。また、RAPD法に比べ再現性が高く、塩基配列情報が全くないサンプルの全ゲノムを対象に解析が可能である。

そこでノリの品種識別にAFLPが利用可能かどうかを確認すると同時に、品種別にAFLP解析を行い、系統解析を試みた。

(1)有効なプライマーペアの検討

ISOPLANTを使用して抽出したノリ糸状体DNAがAFLP解析に使用可能かどうか、また解析に適したDNA断片数を得られるプライマーペアの組み合わせは何か検討した。

材料および方法

ISOPLANTを用いて抽出した糸状体DNA(品種名ナラワ赤芽)を材料にAFLP解析を試みた。AFLP解析はPE Applied Biosystems社のキットAFLP MicroBial Mapping Kitを用いて行い、キットのプロトコルに準じて処理した。プライマーペアとしてEcoRI側はAA・AT・AC・AGの4種、MseI側はCA・CT・CC・CGの4種の

表2 各プライマーペアで認められた断片数

材料:ナラワ赤芽 ()内はピーク高>100

		Mse I			
		CA	CT	CC	CG
EcoR I	AA	84(57)	78(49)	87(64)	85(59)
	AT	2(0)	0(0)	57(32)	65(38)
	AC	113(91)	99(77)	101(85)	122(89)
	AG	84(60)	99(74)	78(55)	109(94)

計16種の組み合わせで増幅を試みた。断片の検出はPE Applied Biosystems社のGenetic Analyzer310を使用し、同じくGeneScan CollectionとGeneScan Analysisソフトウェアで解析した。

結果および考察

各プライマーペアの組み合わせごとに検出された増幅断片の中から、断片サイズが50~500bpの範囲に入る断片数を表2に示した。EcoRI側がATのプライマーを使用した場合には増幅断片数が少なく、特にMseI側がCAとCTの場合にはほとんど増幅断片が検出されなかった。それとは逆に、EcoRI側がACの場合には100を超える多くの増幅断片が検出された。AFLP解析には適当数の断片が得られ、小さな断片から大きなサイズの断片まで得られる方が解析しやすいことから、EcoRI-AG、MseI-CAのプライマーペアで解析するのが適当であると判断し、多型性の検出を試みた。

(2)AFLP法による品種別多型性の検出

AFLPによるアマノリ類の品種識別および系統解析の可能性を確認するため、7品種のAFLPフィンガープリントを調べた。

材料および方法

品種名スサビ、ナラワスサビ、福岡1号、ナラワ緑芽、ナラワ赤芽、アサクサおよびオオバアサクサのフリー糸状体から抽出したDNAを材料にAFLP処理を行った。フリー糸状体はDNA抽出前に1/100NHCl海水に10分間浸漬し、ペニシリン0.1mg/ml、ストレプトマイシン0.25mg/mlを含むESS培地で3日間前培養したものを用いた。AFLP処理と解析は上記と同様とし、プライマーはEcoRI-AG、MseI-CAとした。各品種間の遺伝的な類似度を示す指数として、2品種間で検出された総断片数に占める共有断片数の割合(BSI)を用いた。

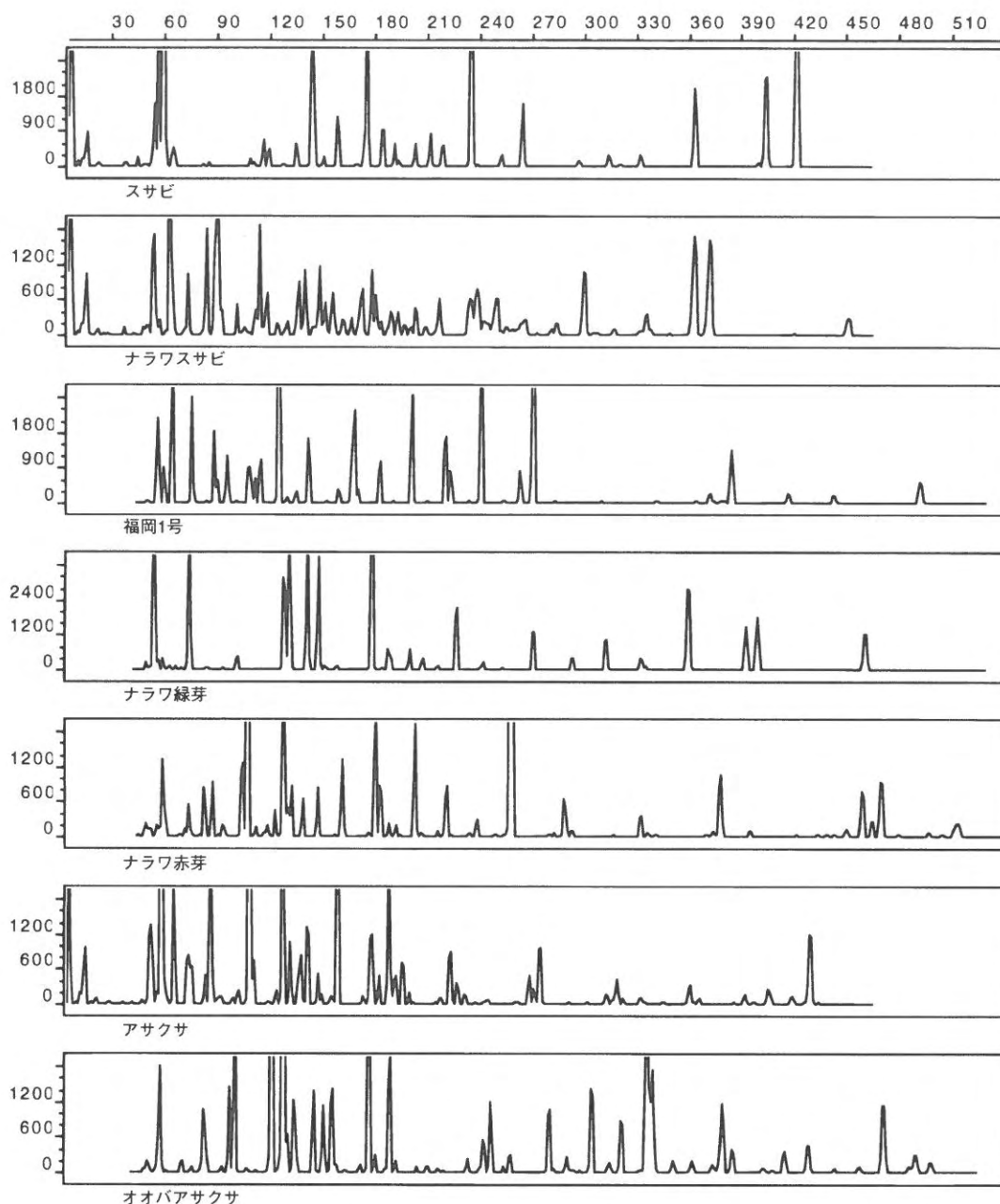


図11 品種別のAFLP フィンガープリントパターン

EcoRI-AG, MseI-CAとした。各品種の遺伝的な類似度を示す指数として、2品種間で検出された総断片数に占める共有断片数の割合 (BSI) を用いた。

結果および考察

サイズ50bp~500bpの範囲で得られた増幅断片数の最少はナラワ緑芽の57, 最大はナラワスサビの94であった。各品種ごとのAFLP解析パターンを図11に示した。いずれのパターンも一致せず、非常に多くの多型を示すピークが認められ、品種識別にAFLPが利用可能であることが示唆された。

検出されたAFLPマーカーに基づく各品種間のBSIを表3に示した。最も高いものでもナラワ緑芽とアサクサ間の0.366と低い値を示し、ノリ品種間の遺伝的類似性

表3 AFLP法による7品種間のBSI

	ナラワスサビ	福岡1号	ナラワ緑芽	ナラワ赤芽	アサクサ	オオバアサクサ
スサビ	0.314	0.259	0.172	0.137	0.319	0.229
ナラワスサビ		0.333	0.212	0.265	0.346	0.217
福岡1号			0.263	0.263	0.267	0.289
ナラワ緑芽				0.236	0.366	0.171
ナラワ赤芽					0.279	0.327
アサクサ						0.204

は低いことが示唆された。

品種の識別はもちろん系統解析や集団の遺伝変異保有量を把握する手法としてAFLP解析はきわめて有効である。RAPD法に比較して、再現性は高く、多くのマーカーが得られる。しかし100%の再現性は得られず、特にノリの場合には同じ品種の系状体から抽出したサンプルでもAFLPパターンが一致しない場合が見られた。DNAに不純物が含まれている場合には再現性が低下するおそれがあり、さらにバクテリア等が付着したフリー系状体や葉体から抽出したDNAをサンプルとして使用しても結果が異なることが予想される。今年度の実験でも各品種間のBSIが極めて低く、AFLP反応を阻害する何らかの不純物の存在も疑われた。再現性のチェックとDNAの精製が今後の検討課題である。

また、AFLP解析による品種識別や系統解析を行う上では、まず由来が確かな系状体や葉体の解析を行い、のちに他の品種をそれと比較するという手順が必要である。さらにプロトプラスト再生系を利用して自家受精させ純系であることが確かな品種と、色彩変異体を利用して他家受精させた品種の系状体と葉体のAFLPフィンガ

ープリントパターンを比較することなども必要であろう。

また今年度は、EcoRI-AG、MseI-CAの組み合わせしか解析を行っていないが、他の15種の組み合わせを利用することによって、品種識別や系統解析の信頼度を高めることができると考えられた。さらに、AFLP解析キットには3塩基の選別プライマー(例えばEcoRI-AGG、MseI-CAA)も用意されており、これらを使用して検出される増幅断片数を減らすことで、AFLPパターンを一見ただけで品種識別が可能となるなど、より良い結果が得られることも期待される。

AFLP法はこれから発展が期待される技術であり、今後十分に検討を加えていきたい。

文 献

- 1) 洲上哲・岩淵光伸：DNA解析等によるアマノリ品種識別技術の開発，平成9年度地域先端技術共同研究開発促進事業報告書(1998)
- 2) 島本功・佐々木卓治：新版植物のPCR実験プロトコール，秀潤社(1997)