

(技術名) ITS遺伝子を対象とした海ブドウ(クビレズタ)の遺伝型判別方法							
(要約) 県内養殖場及び天然海域から採取した海ブドウ藻体の核DNA (ITS遺伝子) 塩基配列は、9個の遺伝子型に分類される。							
海洋深層水研究所					連絡先	098-896-8655	
部会名	水産業	専門	養殖	対象	海ブドウ	分類	研究
普及対象地域							

#### [背景・ねらい]

海ブドウ(クビレズタ)は栄養繁殖するため、一定の条件を揃えることにより安定生産できることから養殖が盛んに行われている。栄養繁殖により増殖することから、多くの株がクローンであり、基本的に遺伝的な変異が少ないと認識されてきた。これまで、県産海ブドウに対して株判別を目的としたDNAの塩基配列の比較は行われていない。そこで、株判別を目的として複数の遺伝子の塩基配列を決定し、遺伝的に判別可能か検討する。

#### [成果の内容・特徴]

1. 県内養殖場及び天然海域から採取した海ブドウを用い、イワヅタ属の分子系統解析で報告(Kazi et al., 2013)のある4つの遺伝子(18S rDNA、ITS rDNA、tufA、rbcL)について塩基配列を比較したところ、ITS遺伝子のみで変異が確認された。なお、塩基配列決定に用いたプライマーリストは表1のとおりである。
2. 96藻体の海ブドウのITS遺伝子の塩基配列(555bp)を決定し、9個の遺伝型が見つかった(図1)。天然(自生)からは4個、養殖からは6個の遺伝型が見られた。
3. 養殖場の藻体は、主に2つの遺伝型にまとまる傾向があった(図1の遺伝型2と3)。
4. 海ブドウ養殖場の一つの水槽から複数の遺伝型が見つかった。養殖場の従業員から生育特性が異なる株が混ざっていることを指摘されていたが、実際に遺伝的に異なる株が混ざっていることを明らかにすることができた。

#### [成果の活用面・留意点]

1. 形態的に異なる藻体のITS遺伝子の塩基配列を比較したところ、同一の遺伝型であることがあった。逆に、形態的に区別できない藻体でも遺伝型が異なることがあった。形態による分類は遺伝型とは対応せず、生育による形態変異の可能性はある。
2. 遺伝型ごとに生育特性を把握し、適した養殖条件を解明することが急務である。
3. 十分なサンプル数の解析を行うことができなかったため、追加解析することで新たな遺伝型が見つかる可能性がある。
4. PCR法で遺伝型を判別する技術が開発できれば、容易に株を判別することが可能となる。

[具体的データ]

表1. 県産海ブドウの塩基配列決定に用いたプライマーリスト。PCR の条件等は、Kazi et al. (2013)を参照。

対象遺伝子	プライマー名	塩基配列 (5'→3')	増幅サイズ (bp)
18S rDNA	18SF	CAACCTGGTTGATCCTGCCAGT	115
	18SR	TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC	
ITS rDNA	ITSF	CCTCTGAACCTTCGGGAG	555
	ITSR	TTCACTCGCCATTACT	
rbcL	rb-F	GCTTATGCWAAAACATTYCAAGG	1076
	rb-R	AATTTCTTTCCAAACTTCACAAGC	
tufA	Tuf-F	TGAAACAGAAMAWCGTCATTATGC	815
	Tuf-R	CCTTCNCGAATMGCRAAWCGC	

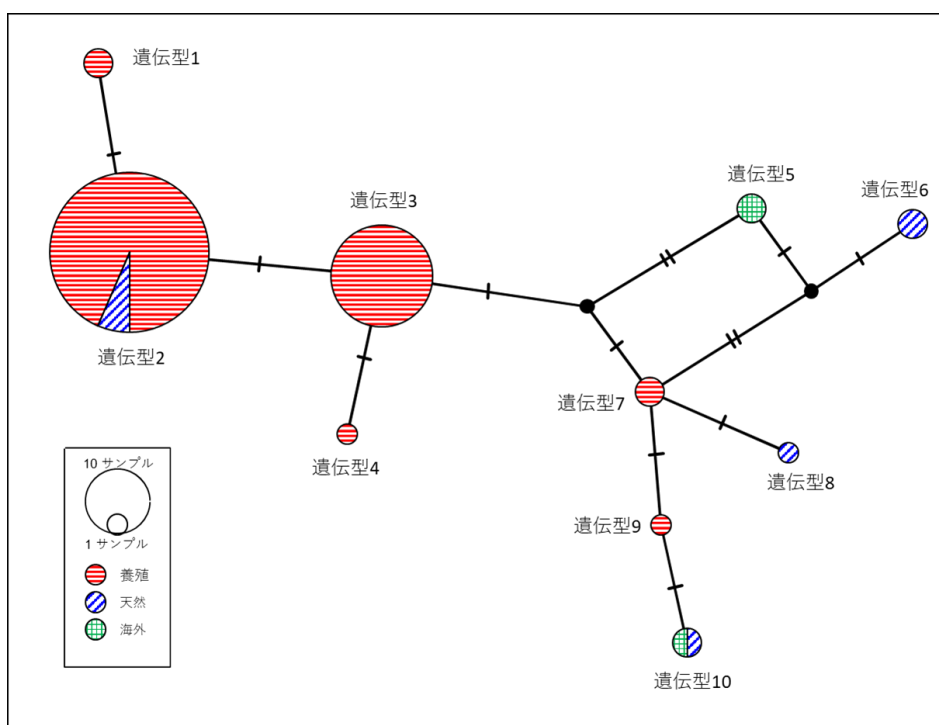


図1. ITS 遺伝子を用いた海ブドウのハプロタイプネットワーク図。その遺伝型に含まれるサンプル数が多いほど丸のサイズが大きくなる。丸間の線の本数は塩基置換の本数を示す。赤横線は養殖場、青斜線は天然（自生）、緑格子線は Genbank に登録されている海外産の海ブドウのデータを示す。

[その他]

課題 I D : 2019 深 002

研究課題名 : クビレズタ（海ブドウ）の株保存技術および品質管理技術の開発

予算区分 : 県単

研究期間（事業全体の期間） : 2019～2021 年度（2019～2021 年度）

研究担当者 : 照屋清之介

発表論文等 : 照屋清之介・寺本沙也加（2022）沖縄深層水研報、No. 22（掲載予定）