平成 25 年度水産学進歩賞

養殖ノリの培養・交雑と分子マーカー解析による遺伝育種学的研究

二 羽 恭 介

兵庫県立農林水産技術総合センター水産技術センター

Genetic and breeding studies in cultivated *Pyropia* by culture experiments, cross experiments and molecular marker analyses

KYOSUKE NIWA

Fisheries Technology Institute, Hyogo Prefectural Technology Center for Agriculture, Forestry and Fisheries, Akashi, Hyogo, 674-0093, Japan

1. はじめに

ノリ養殖は日本における最重要の養殖漁業である。このノリ養殖について、大学4年生の時に初めて研究指導を受けたのが、当時のノリ研究の第一人者である故三浦昭雄先生であった。その翌年に三浦先生が退官されることもあり、大学院の修士課程では有賀祐勝先生の研究指導を受けた。修士課程を修了した1993年に、日本一のノリ生産量を誇っていた兵庫県の水産職として採用されたが、有賀先生からは「就職したら自分のやりたいことはできないよ」と言われていた。案の定、試験研究の仕事ではなく、県庁と淡路島で行政の仕事に7年間携わった。もう試験研究の仕事をするのではないだろうと思っていたところ、思いがけなく2000年4月から兵庫県立水産試験場（現水産技術センター）に異動となり、遅まきながらノリ担当として再び試験研究に取り組むことになった。

公立試験研究機関では、試験研究業務とともに普及業務も重要な仕事になる。兵庫県では秋口になると各浜でノリ生産者がノリの人工採苗（種付け）を始めるため、ノリ担当になった年から毎年、早朝から浜回りを行っている。そこで、多くのノリ生産者に顔を覚えてもらい話をするようになり、逆にノリ生産者からノリ養殖の様々なことを学んでいくこととなった。こうした中で、ノリ生産者は様々なノリ養殖株（現場では「品種」と呼ばれている）を大切に使っていることも知り、ノリ養殖の現場で品種の重要性をあらためて痛感し、養殖ノリの品種改良に関する基礎から応用までの試験研究に取り組んでいくことにした。

2. 養殖ノリと近縁野生種の分類と系統関係

2-1. 養殖ノリの分類と系統関係

日本ではノリ養殖の代表種としてスサビノリとアサクサノリが知られている。また、人工採苗が確立された後、

1960年代からノリ養殖の現場で選抜育種が行われるようになり、両種の中でもナラワスサビノリやオオバアサクサノリといった多収性品種が選抜されるようになった。¹⁾ところが両種は形態的にも単純でかつ類似している点も多いため、三浦先生が亡くなられた後、養殖ノリを正確に同定できる研究者はいなくなっていた。このため、その後もノリ養殖の現場では数多くの養殖株が分離されてきたが、そのほとんどは正確な種名さえ不明確で、葉厚の薄いものは「アサクサ系」、葉厚のあるものは「スサビ系」と呼ばれて使われていた。そこで、養殖ノリの品種改良を進めるうえで、まずは数多く使われている養殖株の正確な種名や系統関係を整理する必要があると考えて、室内培養実験、野外養殖試験、詳細な形態観察とDNA解析を組み合わせて研究を進めた。²⁻⁵⁾その結果、現在ノリ漁場で使われている養殖株のほとんどは稔性が低く大型に生長するスサビノリの一品種ナラワスサビノリであり、ノリ養殖種苗の遺伝的画一化が進んでいることを明らかにした。

一方で、ノリ生産者はナラワスサビノリと同定された株の中でも品種特性に違いがあると話す。もちろん漁場環境や養殖方法によっても養殖ノリの品種特性は大きく変化するが、経験に裏打ちされたノリ生産者の声に耳を傾けることは重要である。そこで、ノリ生産者が品種特性に違いがあると話すナラワスサビノリの2株からそれぞれ厳密な純系株（純系系状体）を分離し、遺伝的な違いがあるか詳しく調べることにした。なお、純系株の分離については、養殖ノリの特異な生活史と関連することから、それも含めて以下に分離方法を概説する。まず、養殖ノリは巨視的な単相（n）の葉状体と微視的な複相（2n）の糸状体による異型世代交代を行う。葉状体は雌雄同株で受精すると接合孢子嚢を形成し、放出された接合孢子（果孢子）は発芽して糸状体に生長する。糸状体は成熟すると殻孢子嚢を形成し、放出された殻孢子は発芽して4細胞期までに減数分裂を行い葉状体に

生長する。また、葉状体は無性的に単胞子を放出し再び葉状体に生長する。従って、単胞子由来の葉状体を1個体だけ分けて培養し、葉状体が成熟したら自家受精させることにより、遺伝的に固定した純系系状体を分離することができる。この純系化技術によって分離した2株を用いて、同一条件下で室内培養を行い、葉状体の葉形を比較したところ、2株で葉形に遺伝的な違いがあることを明確に示した。³⁾ さらに、DNA レベルでも遺伝的差異があるのか AFLP 解析で確かめたところ、わずかながら多型バンドも確認された。このように室内培養実験と AFLP 解析の結果から、遺伝的差異は極めて少ないがナラワスサビノリの系統間でも葉形等に遺伝的な違いがあることを明示した。³⁾ このことから、数多く存在するナラワスサビノリの養殖株から純系株を分離し、ナラワスサビノリの中でも優良形質を持った株を選抜していく純系育種法の有効性を明らかにした。

2-2. アサクサノリの再確認と養殖ノリの種判別法

ところで、分析した主力養殖株はいずれもナラワスサビノリであったが、そもそもアサクサノリの養殖株は存在するのか疑問が生じてくる。また、ノリ養殖種苗の遺伝的画一化が進んでいたことから、もしアサクサノリの存在が確認されれば、育種素材としても重要である。ところが、アサクサノリについても、これまで詳細な形態観察と DNA 解析を組み合わせて同定された報告はなかった。そこで、まずはアサクサノリの自生地として知られている場所で野生ノリを採集し、室内培養で純系株を分離した。この純系株を用いて詳細な形態観察と DNA 解析を行った結果、分離した純系株は野生アサクサノリであることを明らかにした。⁶⁾ これにより得られたアサクサノリの DNA 配列データをもとに、養殖ノリの種判別が簡便に行える DNA 鑑定法（核 rDNA ITS 領域と葉緑体 RuBisCO spacer 領域の PCR-RFLP 分析）を開発した。^{6,7)} この DNA 鑑定法を用いて、かつてノリ養殖に利用され「アサクサノリ」とラベルされていた系統保存株を調べたところ、その大半はナラワスサビノリと判定されたが、オオバアサクサノリなどの養殖アサクサノリの存在も再確認された。⁷⁾ さらに、培養実験を行うことにより野生アサクサノリに比べて稔性が低く生長の速いオオバアサクサノリの緑色型変異株も存在することを明らかにした。⁸⁾ このように、形態観察と DNA 解析を組み合わせて研究することにより養殖ノリの分類と系統関係を整理することができた。

2-3. 養殖ノリの原種と近縁野生種の系統関係

現在のノリ養殖種苗のほとんどはナラワスサビノリであったため、遺伝資源として養殖ノリの原種や近縁野生種を収集していくことも重要と考え、核と葉緑体の DNA 配列データを使って、日本各地に自生する養殖ノリの原種や近縁野生種の存在と系統関係も調べることにした。⁹⁻¹¹⁾ その結果、①分子データからもスサビノリとアサクサノリは大きく2つのクレードに分かれ遺伝的に分化していること、②ナラワスサビノリとオオバアサクサノリもそれぞれの種のクレードに含まれること、③養殖株とは異なり野生スサビノリと野生アサクサノリではそれぞれ種内で遺伝的多様性が維持されていること、④スサビノリとアサクサノリの交雑体が存在すること、

⑤近縁野生種としてウタスツノリのほかスサビノリの隠蔽種も複数存在することなどを明らかにした。これらの知見をもとに、葉緑体 *rbcL* 遺伝子を用いた PCR-RFLP 分析によって、ノリ養殖対象種のみならず隠蔽種を含む近縁野生種も簡便に種判別できる DNA 鑑定法を開発し、育種素材収集のための効率化を図った。¹²⁾ また、野生スサビノリと野生アサクサノリについては、室内培養による特性把握試験も行い、育種素材としての可能性を検討した。^{6,9,13)} その結果、いずれの野生ノリでも葉状体の生長は遅かったが、野生スサビノリは光合成色素含量が高く色落ちに強いこと、野生アサクサノリは葉厚が薄いことなどがわかり、今後、育種素材として利用できることが推察された。

3. 養殖ノリの突然変異育種

2003 年に地元神戸で開催された日本育種学会の公開シンポジウムにおいて、重イオンビーム照射による突然変異育種に関する発表を聞き、これは養殖ノリの品種改良にも活用できると印象に残った。その後、ノリ養殖種苗で遺伝的画一化が進んでいることも明らかになってきたことから、遺伝的変異の拡大を図り新たな養殖品種を開発していくためには、養殖ノリでも突然変異育種や交雑育種（後述）の取り組みが必要であると考えようになった。特に、養殖ノリの葉状体は半数体であるため変異誘発させれば表現型として現れやすく、また変異した細胞群から単胞子を放出させると、上述の純系化技術により人為突然変異株の分離・作出がし易いと考えられる。そこで、実際に養殖ノリの葉状体に炭素イオンを照射し、葉状体を顕微鏡下で観察すると、色素変異した細胞群が確認された。この変異細胞群を含む葉片を切り出し、純系化技術を活用することにより緑色型や赤色型などの色素変異株（純系系状体）の作出に成功した。¹⁴⁾ これらの色素変異株を用いて特性把握試験を行った結果、赤色型の葉状体ではノリ生産者が使う養殖株に比べて生長は遅いものの、旨味成分として重要な遊離アミノ酸含量は高い傾向を示し、有用形質を持った変異株を作出することができた。¹⁵⁾ 今後さらに、高温耐性株などノリ養殖の現場で役立つ有用株の作出を目指して、養殖ノリの突然変異育種が積極的に取り組まれることが望まれる。

4. 養殖ノリの交雑育種と倍数性育種の可能性

4-1. 色素変異体の遺伝分析と交雑育種

交雑育種は農作物の品種改良のため最も多用されている手法であり、これまで交雑育種によって数多くの優良品種が開発されてきている。一方、養殖ノリの葉状体は単純な形態でかつ雌雄同株のため、交雑の確認は極めて難しく、養殖ノリでは交雑育種の取り組みは行われてこなかった。しかし、ノリ漁場から色素変異体が分離され、¹⁶⁾ これらの色彩を遺伝マーカーにして交雑実験が可能になり、^{17,18)} 遺伝分析によって得られた遺伝学的知見をもとに養殖ノリの交雑育種が取り組まれるようになってきた。¹⁹⁾ このように養殖ノリの品種改良を進めるうえで重要な研究に発展してきたが、三浦先生と有賀先生が大学を退官された後、日本では養殖ノリの交雑育種や交雑実験による遺伝分析はほとんど取り組まれなくなって

しまった。

私が現在の職場で試験研究を行うことになったのは、ちょうどそのような時期であった。兵庫県でもノリ漁場からナラワスサビノリの緑色型変異株が分離されていたので、まずは緑色型の遺伝的特性を明らかにするため、緑色型と野生型を交雑させて遺伝分析を行った。²⁰⁾ その結果、緑色型は核遺伝子による単一の劣性遺伝子支配を受けていることが推定された。また、スサビノリでは糸状体から放出された殻胞子の発芽時に減数分裂が起こるため、交雑によって生じた糸状体からは緑色型と野生型の色彩からなる区分状キメラ葉状体が高頻度で生じた。遺伝分析の結果、キメラの色彩区分は少なくとも8種類の遺伝子型を持つことも推定され、各区分から単胞子を放出させることにより各遺伝子型を持ったクローン葉状体に生長することを示した。²⁰⁾ さらに、このクローン葉状体を自家受精させることにより、F₂世代で純系糸状体（純系株）を分離することができる。このことは、養殖ノリでは交雑によって変異拡大を図った後、単胞子を使った純系化技術によって各遺伝子型の純系株を容易に分離できることを示している。従って、変異の拡大を図り新たな養殖品種を開発していくためには、今後、養殖ノリの交雑育種にも力を入れて取り組む必要があると考えるようになった。

しかしながら、養殖ノリの交雑育種を進めるためには、交雑確認に利用できる色素変異体やDNAマーカーなどが必要になってくる。交雑確認用のDNAマーカーについては、養殖ノリの株間では元々遺伝的差異は極めて少ないため、マイクロサテライトマーカーでも区別しにくいことが予想される。また、糸状体に生長する接合胞子は直径わずか数 μm のため1個ずつ分けることは時間と労力がかかり、しかも自家受精によって生長してくる糸状体も含まれるため、数多くの糸状体をDNA解析する必要があり現実的な手法ではない。一方、色素変異体の色彩を遺伝マーカーにすれば、多数の糸状体から容易に交雑した糸状体を見つけることができ、また、自家受精した糸状体と他家受精した糸状体が混在しても容易に色彩で区別できる。このことから、養殖ノリの交雑育種を積極的に進めるためにも、重イオンビーム照射で変異誘発し、交雑確認に利用できる養殖ノリの色素変異体の分離・作出を行ってきた。¹⁴⁾ このようにして分離された赤色型と緑色型を用いて、赤色型♀×野生型♂、緑色型♀×野生型♂、赤色型♀×緑色型♂、緑色型♀×赤色型♂の交雑実験を行い、遺伝分析を行った。²¹⁾ その結果、赤色型と緑色型はそれぞれ核遺伝子による単一の劣性遺伝子支配を受けていること、2つの変異遺伝子は異なる連鎖群に属することが推定された。また、変異型同士の間交雑によって生じたキメラ葉状体の色彩区分の中で、新たな遺伝子型を持った組換え野生型も生じた。²¹⁾ 現在は、さらに異なるノリ養殖株から分離した色素変異株も用いて交雑実験を行い、交雑によって生じたキメラ葉状体の野生型区分の中でも生長の良い葉片や色調の濃い葉片などを切り取り、純系化技術によって優良株の分離・作出を試みているところである。このように、今後、交雑と純系化技術を組み合わせた養殖ノリの交雑育種も積極的に進めていく必要がある。

4-2. 種間交雑と倍数性育種の可能性

養殖アサクサノリの存在を再確認したときに、交雑確認に利用できるオオバアサクサノリの緑色型変異株も見つかったので、⁸⁾ この変異株とナラワスサビノリの種間交雑にも取り組み、交雑後の発達過程を調べるとともに、核、葉緑体、ミトコンドリアのDNAマーカーを用いて後代の遺伝様式も明らかにした。²²⁾ その結果、交雑した糸状体から放出された殻胞子はほとんど全て発芽したが、減数分裂が起きる4細胞期前後でほとんどが死滅し生殖隔離が生じた。生き残った発芽体は一色彩からなる野生型のF₁葉状体に生長し、この殻胞子由来の葉状体から単胞子を放出させたところ、単胞子は正常に発芽し、葉状体に生長した。また、殻胞子由来の葉状体と単胞子由来の葉状体はいずれも成熟し、F₂糸状体が得られた。次に、葉緑体とミトコンドリアのDNAマーカー（RuBisCO spacer, *COI* 遺伝子）からオルガネラの遺伝様式を調べたところ、葉緑体とミトコンドリアはいずれも母性遺伝することを明らかにした。一方、3つの核遺伝子領域（*TOP2*, *EF-1 α* , *ARP4*）、6つのマイクロサテライト領域（*Pye1*, *Pye13*, *Pye38*, *Pye39*, *Pye41*, *Pye53*）の合計9つの核DNAマーカーから、殻胞子由来と単胞子由来のいずれのF₁葉状体であっても両親の両方の遺伝子型を持っていた。このことから、通常半数体である葉状体において、種間交雑によって異質2倍体の葉状体が生じていることが明らかになり、さらに異質2倍体のF₁葉状体から生じたF₂糸状体は異質4倍体であることが推測された。²²⁾ ところが、核rDNA ITS領域のPCR-RFLP分析では、不思議なことに交雑後代でも片親であるオオバアサクサノリの遺伝子型のみ確認された。このような現象が陸上植物でも起きているのか調べたところ、種間交雑によって異質倍数化したときに複数のコピーを持つrDNA ITS領域は片親に均一化する現象（concerted evolution）が起きる場合があることも報告されており、ノリでも種間交雑によって同様の現象が起きていることが推測された。²²⁾ このように、種間交雑実験を行った結果、農作物で行われている倍数性育種の取り組みが養殖ノリの品種改良でも行える可能性が示され、さらに予想もしなかった遺伝現象を確認することができ、研究の醍醐味も実感した。

4-3. ノリ養殖対象種における異質倍数性

種間交雑による異質倍数化が起きてもrDNA ITS領域では片親に均一化するという予想外の結果が得られたことから、これまでITS領域で種判別されたノリ養殖株や原種の中にも異質倍数体が存在する可能性がある。そこで、核と葉緑体のDNAマーカー解析、培養実験、さらに染色体の観察により再検討を行ったところ、野生集団由来の糸状体で見ついていたスサビノリとアサクサノリの交雑体は異質倍数化していることが確認された。²³⁾ この交雑体は葉緑体DNAマーカーから母性遺伝するスサビノリの葉緑体を持っていることが明らかになり、スサビノリを母親としてアサクサノリと種間交雑していることも推定された。一方、養殖アサクサノリと特定されていた糸状体のうちの1株も、実はアサクサノリとスサビノリの種間交雑によって異質倍数化していることが示された。この養殖株は葉緑体のDNAマーカー

解析から、アサクサノリを母親としてスサビノリと種間交雑した結果、異質倍数化していることも推定された。²³⁾ このことから、異質倍数性のノリ養殖株はすでにノリ漁場でも利用されていたことになる。また、野生集団由来の異質倍数性の糸状体では、放出された殻胞子はほとんど死滅することなく葉状体に生長した。²³⁾ これらのことから、今後、種間交雑用の育種素材としてスサビノリの近縁野生種や隠蔽種などをさらに収集し、倍数性育種へのさらなる取り組みを進めることが期待される。

謝 辞

品種改良に関する試験研究は長年にわたる地道な取り組みが必要であるが、継続かつ体系的な試験研究ができるように様々なご支援・ご協力いただいた兵庫県立農林水産技術総合センター水産技術センターの歴代・現職の所長をはじめ職員の皆様に感謝申し上げます。これまで作出してきた養殖株は JF 兵庫漁連のり研究所と県内ノリ生産者のご協力のもと毎年養殖試験に用いられ、その一部はノリ養殖の現場でも利用されるようになってきました。いつも全面的に試験に協力していただいた関係者の皆様に心よりお礼申し上げます。

また、これまで行ってきた研究は、大学、研究機関の多くの先生方、共同研究者の皆様のご指導・ご協力があって発展させることができました。ここに、衷心よりお礼申し上げます。特に、東京水産大学名誉教授の有賀祐勝先生には学生の頃から今日に至るまで、公私にわたり終始親身なるご指導とご鞭撻をいただきました。また、現場の視点に立って養殖ノリの遺伝育種に情熱を注がれた故三浦昭雄先生の遺志が研究を進める大きな力となりました。お二人の先生に改めて感謝いたします。

文 献

- 1) Miura A. A new variety and a new form of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) from Japan: *Porphyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura, var. nov. and *P. yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura, form. nov. *J. Tokyo Univ. Fish.* 1984; **71**: 1–14, pl. I–XI.
- 2) Niwa K, Aruga Y. Rapid DNA extraction from conchocele and ITS-1 rDNA sequences of seven strains of cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol.* 2003; **15**: 29–35.
- 3) Niwa K, Kikuchi N, Iwabuchi M, Aruga Y. Morphological and AFLP variation of *Porphyra yezoensis* Ueda form. *narawaensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). *Phycol. Res.* 2004; **52**: 180–190.
- 4) Niwa K, Aruga Y. Identification of currently cultivated *Porphyra* species by PCR-RFLP analysis. *Fish. Sci.* 2006; **72**: 143–148.
- 5) Niwa K, Furuita H, Yamamoto T. Changes of growth characteristics and free amino acid content of cultivated *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) blades with the progression of the number of harvests in a nori farm. *J. Appl. Phycol.* 2008; **20**: 687–693.
- 6) Niwa K, Kikuchi N, Aruga Y. Morphological and molecular analysis of the endangered species *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 2005; **41**: 294–304.
- 7) Niwa K, Kobiyama A, Aruga Y. Confirmation of cultivated *Porphyra tenera* (Bangiales, Rhodophyta) by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism analyses of the plastid and nuclear DNA. *Phycol. Res.* 2005; **53**: 296–302.
- 8) Niwa K, Furuita H, Yamamoto T, Kobiyama A. Identification and characterization of a green-type mutant of *Porphyra tenera* Kjellman var. *tamatsuensis* Miura (Bangiales, Rhodophyta). *Aquaculture* 2008; **274**: 126–131.
- 9) Niwa K, Kato A, Kobiyama A, Kawai H, Aruga Y. Comparative study on wild and cultivated *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) based on molecular and morphological data. *J. Appl. Phycol.* 2008; **20**: 261–270.
- 10) Niwa K, Iida S, Kato A, Kawai H, Kikuchi N, Kobiyama A, Aruga Y. Genetic diversity and introgression in two cultivated species (*Porphyra yezoensis* and *Porphyra tenera*) and closely related wild species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 2009; **45**: 493–502.
- 11) Niwa K, Kikuchi N, Hwang MS, Choi HG, Aruga Y. Cryptic species in the *Pyropia yezoensis* complex (Bangiales, Rhodophyta): sympatric occurrence of the two cryptic species even on same rocks. *Phycol. Res.* 2014; **62**: 36–43.
- 12) Niwa K, Kobiyama A. Simple molecular discrimination of cultivated *Porphyra* species and related wild species (Bangiales, Rhodophyta). *Phycol. Res.* 2009; **57**: 299–303.
- 13) 二羽恭介. 養殖ノリの分類と品種改良. 水産育種 2008; **38**: 3–16.
- 14) Niwa K, Hayashi Y, Abe T, Aruga Y. Induction and isolation of pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) by heavy-ion beam irradiation. *Phycol. Res.* 2009; **57**: 194–202.
- 15) Niwa K, Yamamoto T, Furuita H, Abe T. Mutation breeding in the marine crop *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta): cultivation experiment of the artificial red mutant isolated by heavy-ion beam mutagenesis. *Aquaculture* 2011; **314**: 182–187.
- 16) 高原隆明, 三浦昭雄, 有賀祐勝. スサビノリの緑色型突然変異体の培養実験. *La mer* 1976; **14**: 58–63.
- 17) Ohme M, Miura A. Tetrad analysis in conchospore germlings of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta, Bangiales). *Plant Sci.* 1988; **57**: 135–140.
- 18) Niwa K, Miura A, Shin JA, Aruga Y. Characterization and genetic analysis of the violet type pigmentation mutant of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Korean J. Phycol.* 1993; **8**: 217–230.
- 19) Miura A, Shin JA. Crossbreeding in cultivars of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta)—preliminary report. *Korean J. Phycol.* 1989; **4**: 207–211.
- 20) Niwa K, Mizuta A, Aruga Y. Genetic characterization of a spontaneous green-type pigmentation mutant of *Porphyra yezoensis* and the significance of using heterozygous conchocele in nori farming. *Fish. Sci.* 2002; **68**: 729–735.
- 21) Niwa K. Genetic analysis of artificial green and red mutants of *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta). *Aquaculture* 2010; **308**: 6–12.
- 22) Niwa K, Kobiyama A, Sakamoto T. Interspecific hybridization in the haploid blade-forming marine crop *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta): occurrence of allodiploidy in surviving F₁ gametophytic blades. *J. Phycol.* 2010; **46**: 693–702.
- 23) Niwa K, Sakamoto T. Allopolyploidy in natural and cultivated populations of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *J. Phycol.* 2010; **46**: 1097–1105.