

クロノリのプロトプラスト作出試験

神野 剛・松岡 正義

養殖クロノリの育種技術開発の一環として、のり葉体のプロトプラストの作出に関する研究を行った。前年度は入手の簡単な市販アワビアセトン抽出物（Abalone Acetone Powder, 以下 AAP）を用いてプロトプラストの作出を試みたが、その作出量は 10^4 cells / g と十分なものではなかった。今年度は酵素処理の条件を変更し作出を試みた。

1 材料と方法

1) 葉体材料

北灘漁協で養殖されていたスサビ系の葉体を用いた。

2) プロトプラストの調査

プロトプラストの調整は以下の手順で行った。

ノリ試料をカミソリで細断。

ノリ試料を 1% パパイン溶液（滅菌海水ベース、デキストラン硫酸カリウム 0.5%, pH6.0）に浸漬, 20 , 125 回転 / 分で 20 ~ 30 分振盪。

滅菌海水で試料を 3 回洗浄。

ノリ試料を 2% AAP 溶液（滅菌海水ベース、デキストラン硫酸カリウム 0.5%, pH6.0）に浸漬, 20 , 125 回転 / 分で 20 ~ 30 分振盪すると共に, 5 分毎に強く攪拌。

40 μ m ミューラーガーゼで濾過。

20 μ m ミューラーガーゼで濾過。

遠心分離（600rpm, 2分, 20 ）

沈澱物を滅菌海水で洗浄。

～ を 3 回繰り返す。

沈澱物を滅菌海水に懸濁し、プロトプラストを計数。

前年度との相違点は酵素液および洗浄液には 0.3M マンニトールを添加しなかった点と AAP 処理中に数回、強い攪拌を加えた点である。

3) 葉体の部位別の作出量の比較

同一葉体の基部・中央部・先端部を切りとり、同様の酵素処理を行いプロトプラスト作出量を比較した。

2 結 果

表 1 にプロトプラストの作出結果を示した。作出量は葉体基部で 0, 中央部で $10^1 \sim 10^2$, 先端部で $10^1 \sim 10^2$ cells / ml であった。

表 1 葉体部位別のプロトプラスト作出量

試験	葉体部位 (cells / g)		
	基部	中央部	先端部
1	0	2×10^1	8×10^1
2	0	1×10^2	5×10^2
3	0	7×10^2	2×10^1

3 考 察

市販 AAP を用いてプロトプラストの作出に成功した例は数機関から報告されている。今回は $10^6 \sim 10^7$ cells / g の作出に成功した兵庫水試の方法に準拠した形で試験を行ったが, 作出量は $10^1 \sim 10^2$ cells / g と低調であった。当場の作出結果でも年度毎にプロトプラストの作出量に差があることから, 市販 AAP はロットによりプロトプラスト作出能力にばらつきが生じる可能性が大きいものではないかと思われる。

一方, ノリの腐敗葉体等から分離された細菌の産生酵素を利用した効率的なプロトプラストの作出例が複数の機関から報告されており今後検討する必要があると考えられる。

葉体の部位別のプロトプラスト作出量について試験を行った結果, 基部からはプロトプラストが得られなかった。プロトプラストの作出に当たっては葉体の中央～先端部を供試した方が良い結果が得られるものと考えられる。

また, 培養葉体に較べて養殖葉体からの作出量は低いとの報告もあり, この点についても検討が必要であろう。