

# TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

養殖ノリの交雑育種に関する基礎的研究

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2022-06-02 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 申, 宗岩 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2458">https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2458</a>

修 士 学 位 論 文

養殖ノリの交雑育種に関する基礎的研究

昭和 61 年度



623

東京水産大学大学院

水産増殖学専攻 (専攻分野 藻類増殖学)

申 宗岩

## 緒 言

ノリ養殖においては、養殖集団のなかからよく伸びる多収性系統を選ぶ選抜育種が主に行なわれていて(三浦 1971a, b, 1972, 1975, 1976a, b, 1979b), 交雑育種は行なわれていない。それには、交雑の結果を確認する適切な方法がなかったことが、その理由としてあげられる。

最近、スサビノリ (Porphyra yezoensis UEDA) 集団の葉状体のなかに、色彩に関する変異があって、それらは遺伝的変異であることが明らかにされた(有賀 1980, Aruga and Miura 1984, Kikuchi et al. 1979, 高原ら 1976, Merrill et al. 1983, 三室 1980, 三浦 1975, 1976a, b, Miura 1984)。一方、三浦(1978, 1979a), Miura(1985), 三浦・国藤(1980)と Ohme et al.(1986)は、スサビノリの正常型と色彩変異型ならびに色彩変異型間の交雑による遺伝学的研究を行ない、既知の色彩に関する自然突然変異型のほかに新たに4つの色彩変異型を分離し、また

スサビノリの色彩の遺伝はメンデルの法則に従っていることを明白にした。

スサビノリの色彩変異型には、緑色型と赤色型の自然突然変異型がある。それらを交雑すると、雑種系状体からは、両親型である緑色型と赤色型の葉状体と、組換型である正常型と黄色型の葉状体と、それらの色彩型の組み合わせからなる種々の区分別斑入りキメラ葉状体が生ずる(三浦 1978, 1979a, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986)。そのほかから、色彩型を標識形質として用いて、組換型である正常型の系統を分離すれば、両親の形質を合わせもっている系統を確実に分離できる。

そこで、本研究では、スサビノリの緑色型と赤色型との交雑によって生ずる組換型である正常型の新しい養殖品種の作出を目的として行なわれた。

## 材料と方法

本研究では、東京水産大学藻類増殖学教室に保存されているスサキノリ (*Porphyra yezoensis* UEDA) の系状体を用いた。そのうち、緑色型には C-O giant 系統 (高原ら 1976) の、赤色型 (三浦 1975) には H-25 系統 (Fig. 1) の系状体を用いた。緑色型の系統は赤く"され病"に対する抵抗性が高いことや乾海苔製品は香気が高く甘味が強いなどの形質に関する特性が明らかになりつつあり (三浦 1979a)、赤色型の系統は焼色が鮮かで (有賀 1974)、成長もよい (三浦 1975)。

交雑育種に当たっては、まずそれぞれの系統の系状体から交雑のための葉状体を培養した。交雑はそれぞれの葉状体から成熟直前の小葉片を切りとり、それらを同一容器に収容培養して行った。F<sub>1</sub> 葉状体を得るためには、成熟した小葉片から果胞子を採り、それらを培養して生育させた。交雑した異型接合型の F<sub>1</sub> 系状体は相補性を示し (三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986) 正常型の色彩を呈する (三浦 1978,

1979a, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986 )。従って, 雑種系状体を得るためには, 正常型の色彩を呈している系状体だけを選択的に分離した。次に, 正常型色彩系統の分離のために, 雑種系状体から生じた $F_1$ 葉状体のなかから, 正常型色彩を呈している葉状体 1 個体を選択的に分離培養し, その正常型色彩の部分から 1 小葉片を切りとった。それを 1 容器に収容し成熟させて果胞子を採り, 次代を育成した。殻胞子を得るためには長さ約 4 cm のクレモナのモノフィラメントを成熟した系状体と一緒に容器に入れて通気培養した。果胞子を得るためには, 葉状体から小葉片 (約  $5 \times 5$  mm) を切りとり成熟させ, それを乳鉢ですりつぶしてナイロン篩絹 (目合 40  $\mu$ ) でこした。上述の交雑育種の過程は Fig. 2 に示した。

葉状体はその大きさに応じて 3 角または枝付き平底フラスコ (300, 500 ml, 1, 2 l) を用いて培養庫 (サンヨー冷蔵ショーケース SMR 500FBF, 三洋電気) で通気培養した。系状体は試験管

または三角フラスコ ( 50, 100, 300 ml ) で静置もしくは振盪培養した。

糸状体の成長には  $23^{\circ}\text{C}$ , 1000 lux, 明期 14 時間・暗期 14 時間, 殻胞子嚢の形成には  $23^{\circ}\text{C}$ , 1000 lux, 明期 10 時間・暗期 14 時間, それの成熟には  $15^{\circ}\text{C}$ , 3000 - 4000 lux, 明期 10 時間・暗期 14 時間の条件下で, また葉状体の培養には  $15^{\circ}\text{C}$ , 6000 - 7000 lux, 明期 10 時間・暗期 14 時間の条件下で行なわれた。

培養液は葉状体, 糸状体のいずれの場合にも PES ( Provasoli 1966 ) を改変して用いた ( Table 1 )。PES の調製には, 伊豆大島沖から採取し貯蔵されている海水を用いた。その海水は培養液調製時にガラスファイバーフィルター ( Whatman GF / c ) で濾過し, 塩分を 31 ‰ に調整した後, 加熱加圧滅菌 (  $120^{\circ}\text{C}$ , 20 min. ) して用いた。

## 結 果

ノリでは糸状体が胞子体で, 葉状体が配偶

体であるので、交雑のためにまず緑色型と赤色型の糸状体を培養した。次にそれぞれの糸状体から緑色型葉状体と赤色型葉状体を生育させ、それぞれの葉状体から交雑親として用いられる葉状体を選択的に分離し成熟直前まで培養した。そのそれぞれの交雑親の葉状体 ( Fig. 3 ) の縁辺部から小葉片を切りとり、それらを同一の三角フラスコに収容し成熟するまでさらに培養を続けた。成熟したそれぞれの小葉片を別々に乳鉢ですりつぶし、その懸濁液を1-2滴ずつ試験管に入れて静置培養した。スサビノリは雌雄同株であり、また精子だけが母体を離れて造果器の受精毛に付着し受精が行なわれるので ( Hawkes 1978 ), 緑色型と赤色型の小葉片を同一容器に収容培養しそのそれぞれから果胞子を採ると同時に正逆交雑をしたことになった ( 三浦 1978, 1979a, 三浦・国藤 1980 ) 。

約2ヶ月後、試験管の壁には直径3mmぐら  
いのF<sub>1</sub>糸状体のコロニーが形成されて分離で



きるようになった。緑色型の小葉片を母藻とした場合には、雌親の糸状体と同じ緑色を帯びた糸状体と、正常型の色彩と同色の黒色を帯びた糸状体とのコロニーが出現した。また赤色型の小葉片を母藻とした場合には、雌親の糸状体の色彩と同じく赤色を呈している糸状体と、緑色型の小葉片を母藻とした場合と同じく正常型の色彩を呈している黒色の糸状体とのコロニーが生じた。スサビノリの正常型と色素変異型との交雑および色素変異型間の交雑で、緑色型と黄色型ならびに赤色型と黄色型との正逆交雑の場合を除いては、その異型接合型の $F_1$ 糸状体が正常型の色彩を示すことは知られている(三浦 1978, 1979a, Miura 1985, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986)

緑色型の小葉片を母藻として得た $F_1$ の緑色型糸状体と正常型糸状体とのコロニー、赤色型の小葉片を母藻として得た $F_1$ の赤色型糸状体と正常型糸状体のコロニーを別々に分離培養し、 $F_1$ 葉状体を生育させた。緑色型を雌親

とした場合に生じた  $F_1$  緑色型系状体からは緑色型の  $F_1$  葉状体だけが生じ、 $F_1$  正常型系状体からの  $F_1$  葉状体には色彩型の分離が起こり、緑色型、赤色型、正常型および黄色型の葉状体がお互いにかに生じた。またそれらの4種類の色彩型のうち、2種類の色彩型の2区分からなる2色彩型区分状斑入りキメラ葉状体、2種類の色彩のうち1種類の色彩型が重複して3区分からなる重複2色彩型区分状斑入りキメラ葉状体などが高い頻度で生じた。赤色型を雌親とした場合の  $F_1$  赤色型系状体からは赤色型の  $F_1$  葉状体だけが生じ、 $F_1$  正常型系状体からは緑色型、赤色型、正常型および黄色型の葉状体が少数生じた。同時に、2色彩型および重複2色彩型区分状斑入りキメラ葉状体などが高頻度で生じ、正常型の色彩を呈している異型接合型の雑種系状体からは緑色型を雌親とした場合と赤色型を雌親とした場合の正逆交雑のいずれも同様に色彩型の分離が起こった (Fig. 4)。

これらの  $F_1$  葉状体のなかから、正常型色彩系統の同型接合型の糸状体を分離し固定するため、正常型の色彩を呈している葉状体 1 個体を選択的に分離し培養した。分離の際には、正逆交雑から生じた  $F_1$  葉状体のうち葉長 10 cm 以上のものから葉長幅比の大きい個体を選抜した。次代の母藻として用いられた正常型の  $F_1$  葉状体は殻胞子付着後 3 ヶ月で葉長 150 cm, 葉幅 15 cm まで長大に生長した (Fig. 5)。その母藻の縁辺部から 1 小葉片を切りとり、それを 1 容器に収容培養し成熟させ、果胞子を採りそれを試験管に接種、培養し、 $F_2$  糸状体を育成した。

正常型の  $F_1$  葉状体から育成された  $F_2$  糸状体には色彩型の分離が起こらず、全て正常型の色彩を呈した。この  $F_2$  糸状体から生育した  $F_2$  発芽体でも、色彩型の分離はみられず、全て正常型の色彩を呈した (Fig. 6)。上述の結果を表現型を用いて Table 2 に示した。

## 考 察

スサビノリ集団に、正常型に対して赤色型の自然突然変異型の葉状体があり（三浦 1975）また正常型と緑色型との区分からなる区分状斑入りキメラ葉状体から緑色型の系統が分離（高原ら 1976）されてから、スサビノリの色彩の遺伝学的研究が三浦（1978, 1979a, Miura 1985）、三浦・国藤（1980）と Ohme et al. (1986) によって行なわれた。それによれば、緑色型と赤色型はそれぞれ正常型に対する単一の劣性遺伝子の支配を受けている（三浦 1978, 1979a, Miura 1985, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986）。これらの緑色型遺伝子と赤色型遺伝子は相同染色体上に位置する（三浦 1978, Miura 1985, 三浦・国藤 1980）同一連鎖群に属する遺伝子であり（三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986）、遺伝子座を異にし（三浦 1978, 1979a, Miura 1985, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986）相補的關係にある（三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986）。緑色型遺伝子と赤色型遺伝子の座の間では乗換えによる組換えが起こる（三浦 1978, 1979a,

Miura 1985, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986) ので, 交雑により生ずる正常型と黄色型は組換型であり (三浦 1978, 1979a, Miura 1985, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986) この黄色型の葉状体は緑色型と赤色型の遺伝子をもった二重劣性である (Miura 1985, 三浦・国藤 1980) が, 正常型の葉状体はそれらのいずれももたない (三浦 1979a, 三浦・国藤 1980)。一方, 緑色型と赤色型の交雑からは 1 色彩型がわずかに生じ, 区分別斑入りキメラ葉状体が 97.5% 以上の高頻度で生ずる (Ohme et al. 1986)。また, スサビノリの色彩の遺伝は全生活環にわたって核遺伝によってなされる (三浦 1978, 1979a), メンデルの法則に従っている (Miura 1985, Ohme et al. 1986)。本研究では, 交雑によって生ずる色彩型の頻度と分離比はみなかったが, 色彩型の遺伝様式はこれらの結果とよく一致していた (Table 2)。

緑色型を雌親とした場合,  $F_1$  系状体には緑色型と正常型の系状体が, 赤色型を雌親とした場合には赤色型と正常型の系状体が生じた

( Table 2 ) 。 スサビノリは雌雄同株であるので、自家受精と他家受精の機会をもっている。緑色型を雌親とした場合、緑色型の  $F_1$  系状体は緑色型の  $F_1$  葉状体だけを生じ、正常型の  $F_1$  系状体は  $F_1$  葉状体で4種類の色彩型とそれらの組合せからなる区分別入りキメラ葉状体を生じた ( Table 2 ) 。一方、赤色型を雌親とした場合、赤色型の  $F_1$  系状体は赤色型の  $F_1$  葉状体だけを生じ、正常型の  $F_1$  系状体は緑色型を雌親とした場合の結果と同じであった ( Table 2 ) 。緑色型と赤色型の正逆交雑で、雌親と同じ色彩型の系状体は、次代葉状体で雌親と同じ色彩型だけを生ずるので、自家受精によって生じた同型接合型の系状体であることを示し、一方、正常型系状体は、次代葉状体で4種類の色彩型を分離しているので、他家受精によって生じた異型接合型の系状体であることを示し、これが正常型の色彩を示していることは緑色型の遺伝子と赤色型の遺伝子が遺伝子座を異にし相補的關係にあることを示している

( 三浦 1978, 1979a, 三浦・国藤 1980, Ohme et al. 1986 )。  
従って、本研究で得られた黒色を帯びている  
正常型の  $F_1$  系状体は異型接合型の雑種系状体  
である。

正常型の色彩を呈している  $F_1$  雑種系状体か  
らは、緑色型、赤色型葉状体と正常型、黄色  
型葉状体および種々の区分状斑入りキメラ葉  
状体が生じ ( Fig. 4 ) , それは正逆交雑のいず  
れからも同様であった ( Table 2 ) 。このことは、  
三浦 ( 1978, 1979a ) , 三浦・国藤 ( 1980 ) と Ohme  
et al. ( 1986 ) の結果とよく一致していて、本  
研究で得られた緑色型と赤色型葉状体は両親  
型であり、正常型と黄色型は組換型である。  
また、区分状斑入りキメラ葉状体のそれぞれ  
の区分の色彩型も同様である。

組換型の正常型葉状体の自家受精により  
得られた系状体では色彩型の分離が起こら  
ず、全て正常型の色彩を呈した ( Table 2 ) 。ノ  
リの葉状体は半数体であるので、自家受精さ  
せれば1代で純系の系状体が得られる。三浦



( 1975, 1976a, b, 1979a ) と 高 原 ら ( 1976 ) は , 区  
分 状 斑 入 り キ ヶ ラ 葉 状 体 の そ の そ の 色 彩 区  
分 ま た は 1 色 彩 型 個 体 の 自 家 受 精 に よ り , 継  
代 培 養 を 行 な い そ の そ の 純 系 を 得 て い る 。 ま  
た ,  $F_2$  系 状 体 か ら の 発 芽 体 で も 色 彩 型 の 分 離  
は み ら れ ず , 全 て 正 常 型 の 色 彩 を 呈 し て い る  
( Fig. 6 ) の で , 育 成 し た  $F_2$  系 状 体 は 交 雑 に よ  
る 組 換 型 の 新 し い 純 系 で あ る と 考 え ら れ る 。

緑 色 型 と 赤 色 型 を 交 雑 す る と ,  $F_1$  葉 状 体 に  
は 両 親 型 と 組 換 型 の 1 色 彩 型 お よ び 区 分  
状 斑 入 り キ ヶ ラ 葉 状 体 が 生 ず る ( 三 浦 1978, 1979  
a, 三 浦 ・ 国 藤 1980, Ohme et al. 1986 ) 。 と こ ろ が ,  
最 近 , Ohme and Miura ( 未 発 表 ) に よ る と , そ の  
ら の 1 色 彩 型 は 2 色 彩 型 の 区 分 状 斑 入 り キ ヶ  
ラ 葉 状 体 で あ る が , そ の う ち 1 色 彩 型 の 区 分  
が 根 様 系 に な っ て 発 現 し な い た め , 1 色 彩 型  
と な る 。 し か し , 根 様 系 は 生 殖 に は 関 与 し な  
い の で , ま た  $F_2$  世 代 で 色 彩 型 の 分 離 が み ら れ  
な い ( Fig. 6 ) の で , 正 常 型 の  $F_1$  葉 状 体 か ら 生  
じ た  $F_2$  系 状 体 は 純 系 で あ る 。



$F_2$  系状体を得るために、正逆交雑から生じた  $F_1$  葉状体のなかから緑色型を雌親とした 1 個体を選抜的に分離しそれを次代の母藻として用いた (Fig. 6)。交雑育種において、その子孫は少なくとも両親の形質を合せているはずであり、また  $F$  世代の母藻として用いた葉状体は長大に成長したので、赤色型を雌親とした場合と差がないことが期待される。

以上の考察によれば、色彩型を核の標識として用いることにより、遺伝様式と交雑の結果を直接確認することができると期待される。また減数分裂のとき、染色体の乗換えにより連鎖関係にある緑色型遺伝子と赤色型遺伝子の組換えが起こるので、交雑による変異体の作成が可能である。また葉状体は半数体であるので、自家受精させれば 1 代で遺伝子型の固定ができ、確実に純系が得られる。

本研究では、スサビノリの緑色型と赤色型の交雑を行ない、表現型の色彩型を標識形質として用い、組換え型の純系の  $F_2$  系状体の作出

を行なった。この $F_2$ 世代は少なくとも西親の形質を合わせもっていると考えられるが、養殖品種としての選抜検定は今後の研究課題である。

### 要 約

ノリ養殖においては、養殖集団のなかからよく伸長する多収性系統を選ぶ選抜育種が主体で、交雑育種は行なわれていない。従って、本研究は、養殖ノリの交雑育種により新しい養殖品種の作出を目的として行なわれた。

スサビノリの色彩変異型のうち、緑色型（系統 C-0 giant）と赤色型（系統 H-25）を素材集団として用いた。変異の作出は交雑育種法によった。緑色型と赤色型の遺伝子は相補性を示すので、雑種系状体は正常型の色彩を呈した。この雑種系状体からは、正逆交雑のいずれの場合にも、西親型の緑色型と赤色型葉状体、組換型の正常型と黄色型の葉状体が少

数生じ、それらの色彩型からなる種々の区分別状斑入りキメラ葉状体が高頻度で生じた。そのなかから、次代の母藻として正常型の葉状体を選抜分離し、その正常型色彩の部分の葉片を自家受精させて正常型の $F_2$ 世代を育成した。ノリの葉状体は半数体であるので、自家受精させれば1代で遺伝子型の固定ができ、純系の糸状体が得られる。従って、育成した $F_2$ 糸状体は純系である。また、組換え型の正常型の次代であるので、両親の形質を合わせているはずであり、色彩も正常型を呈する。

本研究では、組換え型である正常型の純系の $F_2$ 糸状体の作出まで行なわれたが、それらの養殖品種としての選抜検定は今後の研究課題である。

## 謝 辞

本研究を行なうにあたり、始終御指導を賜わった東京水産大学藻類増殖学教室の三浦昭

雄教授と実験を行なうに際し多大な助言と便宜を与えられた同教室の各位に心から感謝の意を表す。

### 参考文献

- 有賀祐勝 1974. 養殖ノリの色調. 私達の海苔研究 23 : 47 - 61.
- 有賀祐勝 1980. スサビノリの色彩と色素. 遺伝 34 (9) : 8 - 13.
- Aruga, Y. and Miura, A. 1984. In vivo absorption spectra and pigment contents of the two types of color mutants of Porphyra. Jap. J. Phycol. 32 : 243 - 250.
- Hawkes, M. W. 1978. Sexual reproduction in Porphyra gardneri ( Smith et Hollenberg ) Hawkes (Bangiales, Rhodophyta ) Phycologia 17 : 329 - 353.
- Kato, M. and Aruga, Y. 1984. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of Porphyra yezoensis in laboratory culture. Jap. J. Phycol. 32 : 333 - 347.

- Kikuchi, R., Ashida, K. and Hirao, S. 1979. Phycobilins in different color type of Porphyra yezoensis UEDA. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish. 45 : 1461 - 1464.
- 高原隆明・三浦昭雄・有賀祐勝 1976. スサビノリの緑色突然変異体の培養実験. うみ 14 : 8 - 13.
- Merrill, J. E., Mimuro, M., Aruga, Y. and Fujita, Y. 1983. Light-harvesting for photosynthesis in four strains of red alga Porphyra yezoensis having different phycobilin contents. Plant & Cell Physiol. 24 : 261 - 266.
- 三室守 1980. スサビノリの色素変異体の光合成色素系. 遺伝 34 (9) : 21 - 25.
- 三浦昭雄 1971a. 海苔の養殖品種. 全国海苔貝類漁業協同組合連合会, 東京.
- 三浦昭雄 1971b. オオバアサクサノリとナラワスサビノリの品種特性について (追補). 私達の海苔研究 20 : 59 - 77.
- 三浦昭雄 1972. 続・オオバアサクサノリ・ナラワスサビノリの品種特性. 私達の海苔研究 21 : 51 - 72.

- 三浦昭雄 1975. ノリの育種について. 日本水産資源保護協会月報 138 : 7 - 16.
- 三浦昭雄 1976a. 海苔の遺伝と育種—選抜の効果をめぐって—. 私達の海苔研究 25 : 51 - 82.
- 三浦昭雄 1976b. ノリの育種. 海洋科学 8 (7) : 15 - 21.
- 三浦昭雄 1978. ノリの色彩の変異体と色彩の遺伝. 遺伝 32 (8) : 11 - 16.
- 三浦昭雄 1979a. 水産育種の現状と将来—藻類—. p. 78 - 92. 日本水産学会 [編] 水産学シリーズ 26, 水産生物の遺伝と育種. 恒星社厚生閣, 東京.
- Miura, A. 1979b. Studies on genetic improvement of cultivated Porphyra (Laver). p. 161 - 168. Proc. 7th Japan - Soviet Joint Symp. Aquaculture, Sep. 1978, Tokyo.
- Miura, A. 1984. 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. 71 : 1 - 37.

Miura, A. 1985. Genetic analysis of the variant color types of light red, light green and light yellow phenotypes of Porphyra yezoensis ( Rhodophyta, Bangiaceae, ). p. 270 - 284. In H. Hara [ ed. ] Origin and evolution of diversity in plants and plant communities. Academia Scientific Book Inc., Tokyo.

三浦昭雄・国藤恭雄 1980. スサビノリの色彩変異型の遺伝子分析. 遺伝 34 (9) : 14 - 20.

Ohme, M., Kunifuji, Y. and Miura, A. 1986. Cross experiments of the color mutants in Porphyra yezoensis UEDA. Jap. J. Phycol. 34 : 101 - 106.

Provasoli, L. 1966. Media and prospects for the cultivation of marine algae. p. 63 - 67. In A. Watanabe and A. Hattori [ ed. ] Cultures and collections of algae. Proc. U.S. - Japan Conf. Hakone, Sept. 1966. Jap. Soc. Plant Physiol.

Table 1 Composition of the modified PES medium used in the study.  
 To obtain PES add 2 ml of ES solution to 100 ml of seawater.

---

ES solution

H <sub>2</sub> O	100	ml
NaNO <sub>3</sub>	350	ml
Na <sub>2</sub> glycerophosphate	50	ml
Fe(as EDTA)	2.5	ml
P II metal mix *	25	ml
pH (adjusted with Tris buffer)	7.8	

---

\* P II metal mix

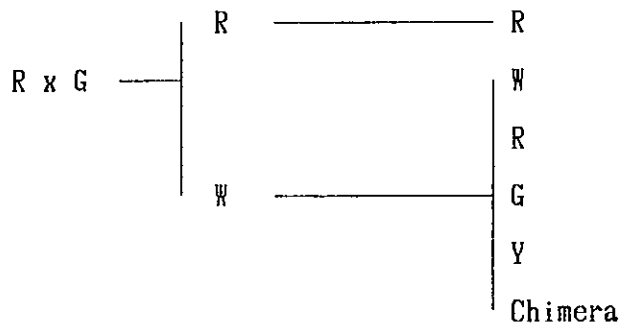
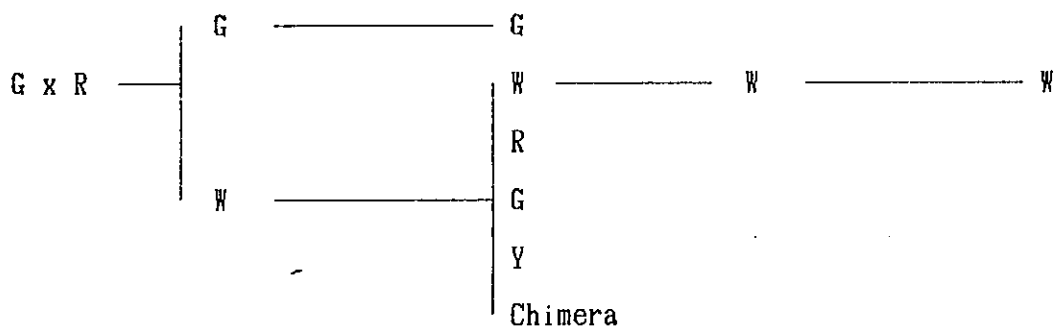
H <sub>2</sub> O	100	ml
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	114	ml
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4.9	ml
MnSO <sub>4</sub> ·4H <sub>2</sub> O	16.4	ml
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2.2	ml
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.48	ml
Na <sub>2</sub> EDTA	100	ml

---



Table 2 Results of crossbreeding between green and red type mutants of *Porphyra yezoensis* UEDA. G: green type, R: red type, W: normal type, Y: yellow type

Cross *	F <sub>1</sub> conchocelis	F <sub>1</sub> thallus	F <sub>2</sub> conchocelis	F <sub>2</sub> thallus
---------	----------------------------	------------------------	----------------------------	------------------------



\* Female parent shown first.

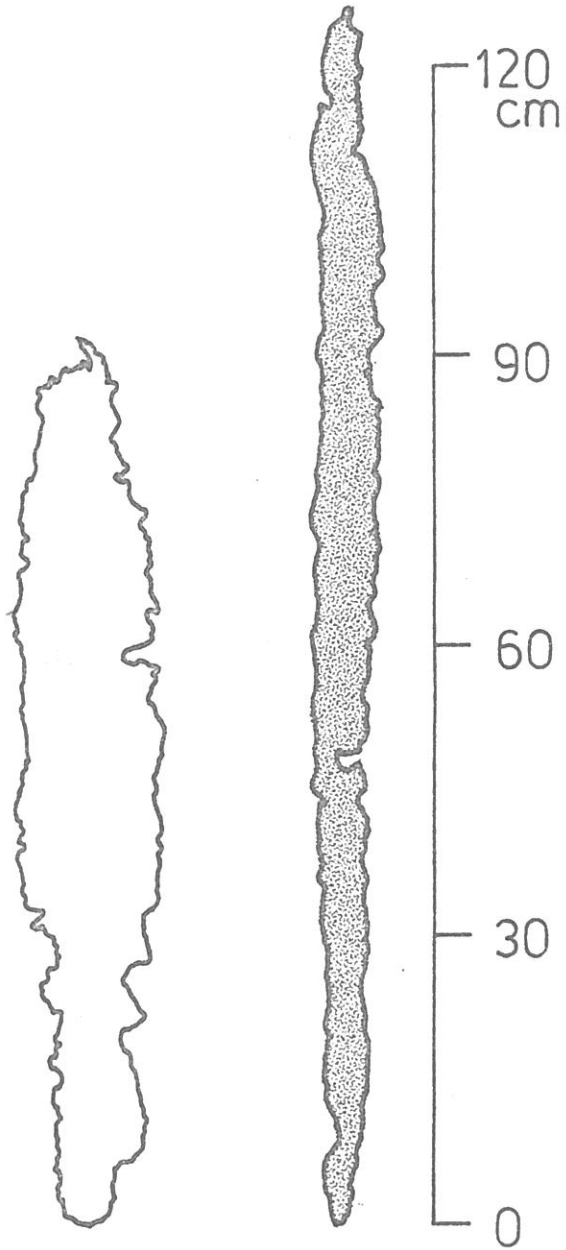


Fig. 1 Original leafy thalli of the green type(C-Ogiant) on the left and the red type(H-25) on the right used in the study in Porphyra yezoensis UEDA.

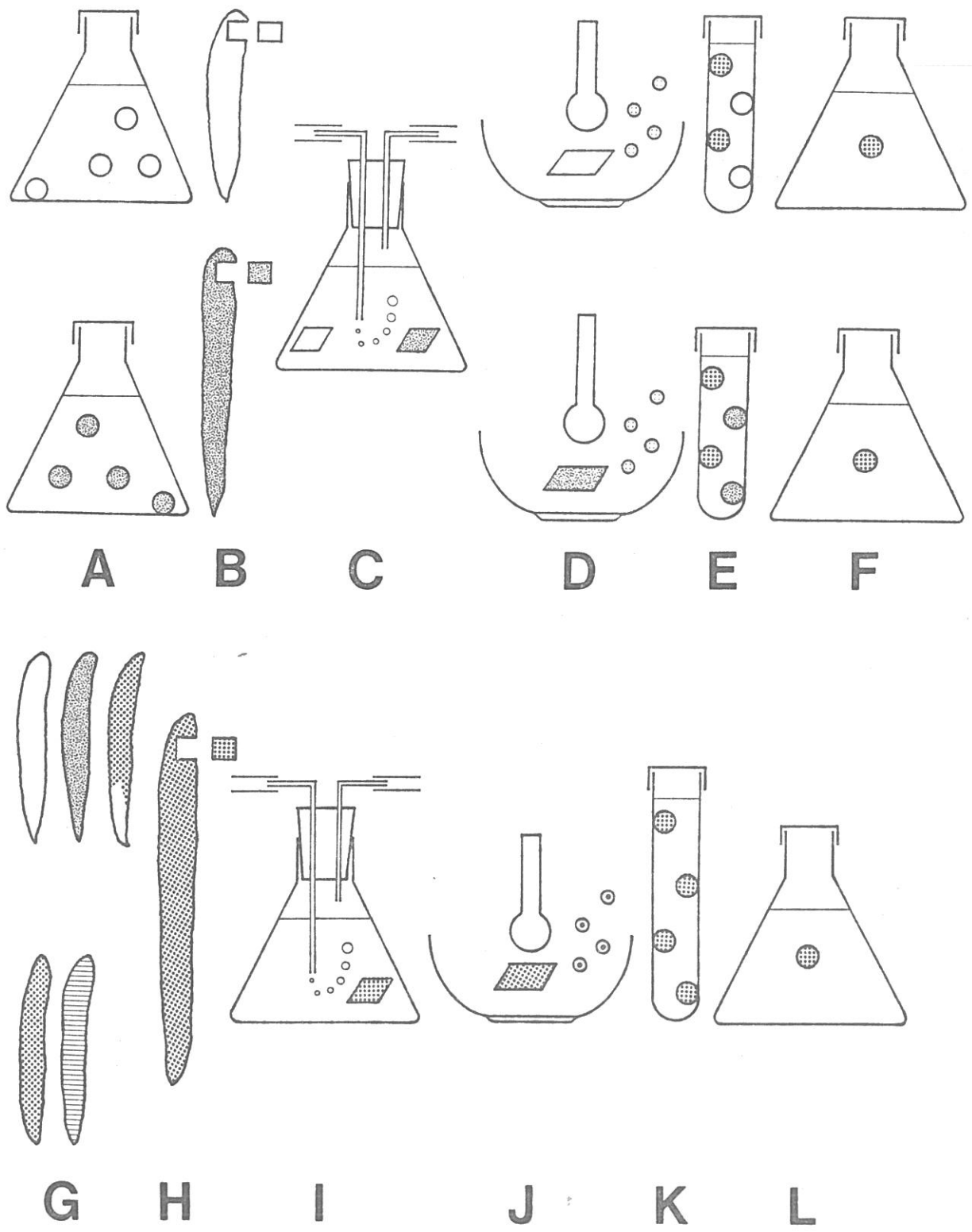


Fig. 2 Crossbreeding procedure between green and red type mutants in *Porphyra yezoensis* UEDA. See the next page.

Fig.2 Crossbreeding procedure between green and red type mutants in Porphyra yezoensis UEDA.

A: Original stocks of green type and red type free-living conchocelis filaments.

B: Green and red type thalli reproduced from stocks of green and red type free-living conchocelis filaments, respectively. They are used as parental thalli of both types from which 5 mm<sup>2</sup> thalli pieces are cut off for crossbreeding experiments.

C: Co-culture of parental thalli pieces for crossbreeding.

D: Obtaining carpospores by squashing matured thallus piece in a mortar.

E: Inoculation of carpospores giving rise to F<sub>1</sub> conchocelis filament.

F: Isolation of a colony of heterozygotic conchocelis filament.

G: F<sub>1</sub> thalli grown from a heterozygotic conchocelis filament. Various types of sectorial variegated chimeral thalli which are composed of green, red, yellow and normal type sectors and single color type thalli appeared.

H: Selection of a normal type thallus as parental thallus for selfing. A 5 mm<sup>2</sup> thallus piece being cut off from a parental thallus.

I: Incubation of a thallus piece for selfing.

J: Obtaining carpospores by squashing matured thallus piece in a mortar.

K: Inoculation of carpospores giving rise to F<sub>2</sub> conchocelis filament.

L: Incubation of pure line conchocelis filament.

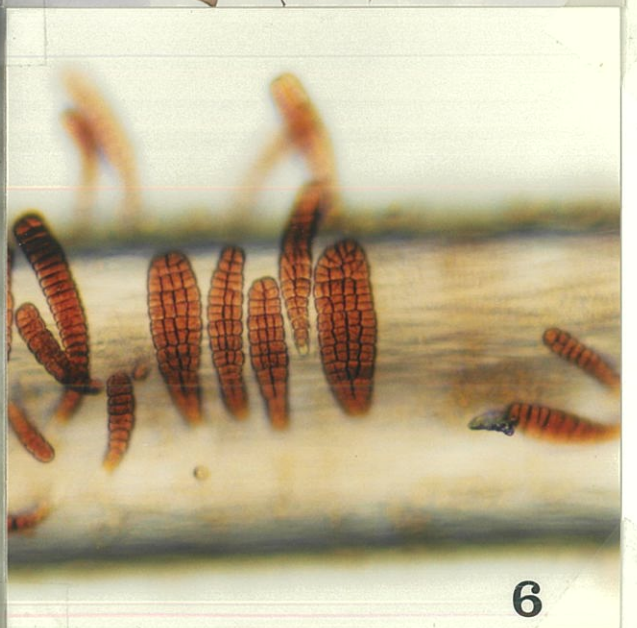
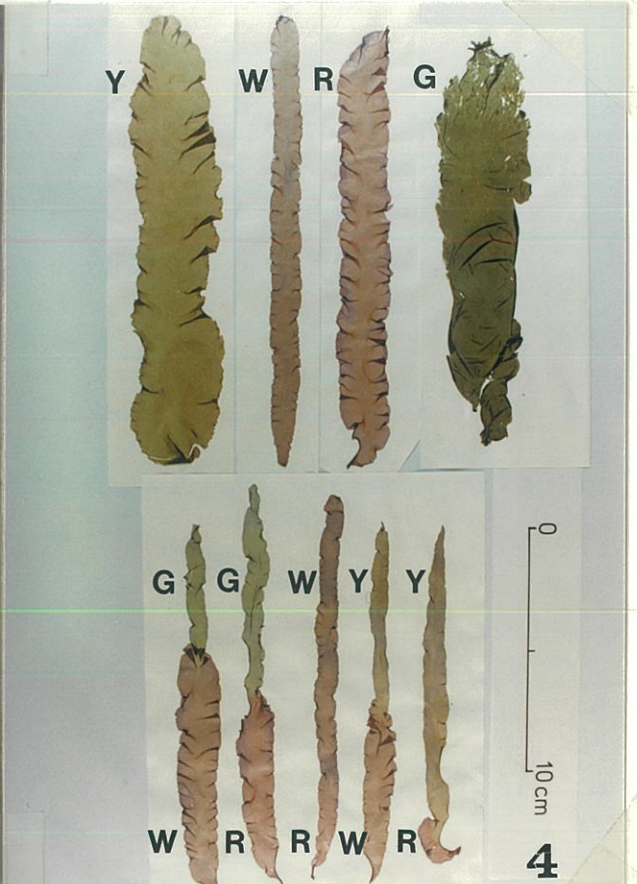
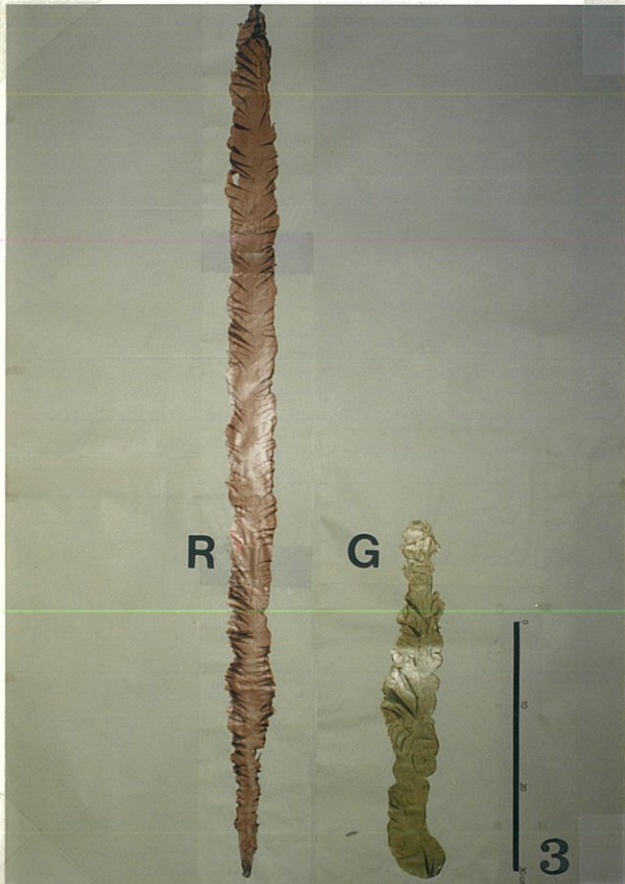


Fig.3 Parental thalli for crossbreeding experiments.

G: green type thallus, R: red type thallus. Scale, 30 cm.

Fig.4 F<sub>1</sub> thalli grown from a heterozygotic conchocelis filament, showing single color type thalli ( upper ) and sectorially variegated chimeral thalli ( lower ).

G: green type, R: red type, W: normal type, Y: yellow type.

Fig.5 Normal type thallus used as parental thallus for selfing.

Scale, 30 cm.

Fig.6 F<sub>2</sub> normal type germlings arised from a homozygotic F<sub>2</sub> conchocelis filament. x 100.