

優良海藻作出研究

桐原 慎二・小田切譲二

産業上優良な藻体から均一な遺伝形質を持つ養殖用種苗を効率よく生産する技術の確立を目的に、マコンブを用いて組織培養を試みた結果、基部組織の培養によって形成されたカルスから、配偶体を経ずに孢子体へ分化させることができた(桐原ら 1991)。このカルスをさらに液体培地中で培養したところ、孢子体へ分化と同時に雌雄配偶体へ分化する細胞が観察され、成熟した卵からは孢子体の発生が観察されたので報告する。

材料と方法

組織培養に供したマコンブは1987年6月11日に青森県大間町地先水深20mから採取した2年生藻体とし、採取後直ちに青森県水産増殖センターに運び、濾過海水を掛け流した水槽中に収容した。7月8日にその基部組織の5mm角を能登谷(1988)の方法に従い、図1に示したとおり摘出後、シャーレ中の1.5%寒天を加えたグラント改変培地上に置き、5℃、2000 lux、16時間明期、8時間暗期の長日条件下で培養した。実験操作は無菌的に行ない、培地はすべて、121℃、15分間加圧滅菌して用いた。培養細胞及び培地中の細菌検索は、各々の10mg、0.5ml前後をZobell 2216E培地、プレーン・ハート・インヒュージョン・アガー培地(栄研)に塗布し、15℃で7日間培養しておこなった。

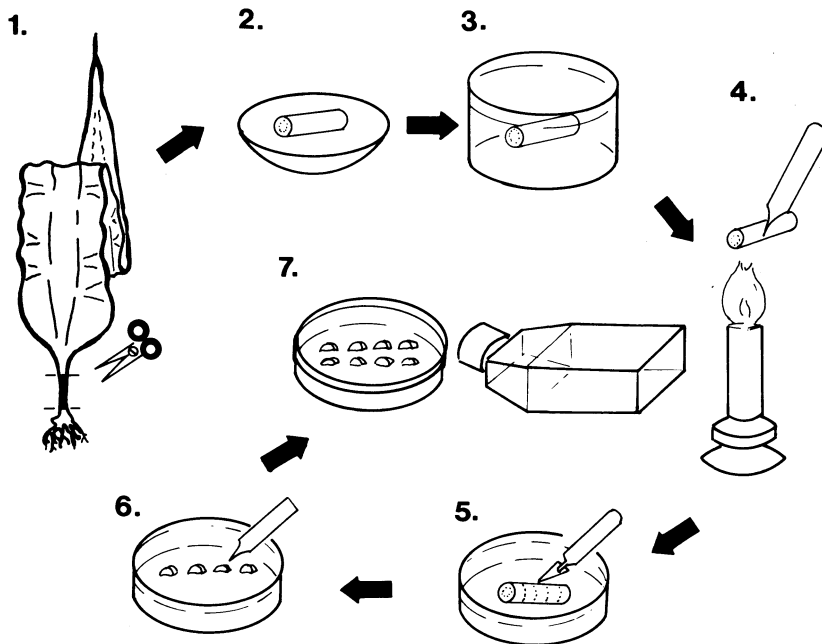


図1 組織培養の手順

結 果

マコンブ基部から摘出した組織を固形培地上に乗せて培養したところ、培養1週間目には組織の一部から伸長するように再生細胞が認められ(A)、さらにそのまま培養したところ約2か月後に肉眼で確認できるまでに生長した。培養59日後に組織片から再生した細胞部分を切り離し、100mlのグラント改変液体培地を含む三角フラスコに移し、2カ月に1度の割合で培地の全量を交換しながら、同じ条件下で静止培養した。再生細胞は液体培地中で色素体の少ない細胞を、樹状に分裂させ、培養1年後には、直径数mmの白色のカルスに生長した。さらに培養を継続したところ、カルスの所々に細胞色素体が多くなり、直径1~2mmの褐色の斑点として認められた(B)。培養3年目に色素体のため褐色を呈したカルスが、直径2cm前後にまで生長したので、これを細断して、25mlのグラント改変液体培地を含む培養フラスコに植え継いだ。植え継ぎ直後の細胞は樹状に多数の分岐がみられた(C)。植え継ぎから約半年後に培養細胞の一部に造精器様器官の形成が認められ(D)、さらに培養を継続した結果、精子細胞の放出が観察されたため、雄性配偶体の形成が確認された(E)。これとは別に、培養細胞には、その先端に造卵器様形状持つ球状細胞が観察され(F)、培養とともにそれから卵が形成されたため、雌雄配偶体の形成が確かめられた(G)。形成された卵の一部は培地中に放出されたため、培地中に卵と遊泳する精細胞が同時に観察された。卵形成から1~2週間後には、卵に細胞分裂が認められ、孢子体の形成が観察された(H)。

培養期間を通じて行った細菌検索の結果、培地上に細菌コロニーが認められなかったため、培養組織と培地中には好気性あるいは通性嫌気性従属栄養細菌は生育しなかったと推察された。

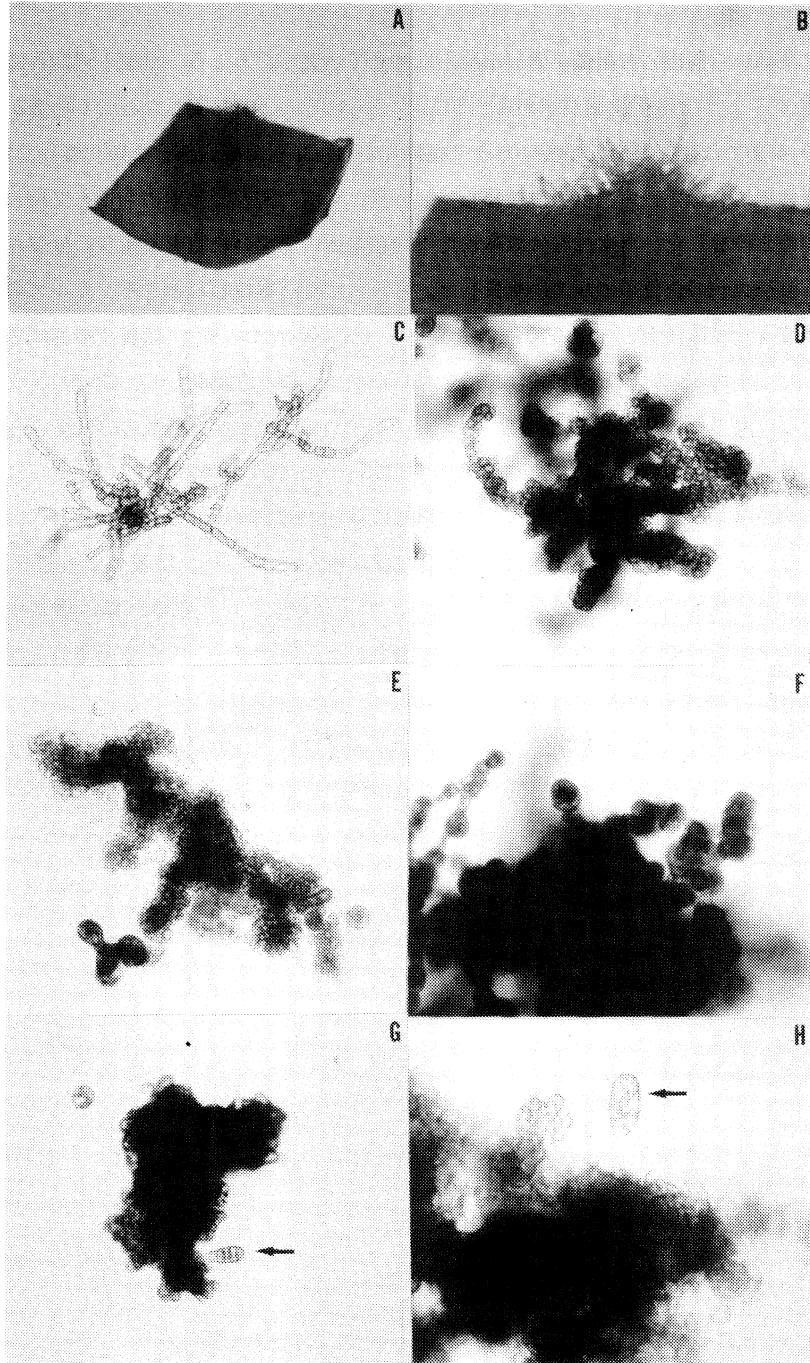


図2 マコンプ基部から培養した細胞。A：固形培地上の基部組織と再生細胞（×10）、B：カルスを構成する細胞（×250）、C：液体培地に植え継いだカルス細胞（×250）、D：造精器様器官を形成した培養細胞（×250）、E：形成された雄性配偶体と精細胞（×250）、F：造卵器様器官を形成した培養細胞（×250）、G：雌性配偶体上に形成された卵細胞（矢印、×250）、H：形成された孢子体（矢印）。

表1 これまでに組織培養が行われたコンブ目植物

種名 (和名)	組織	結果	文献
<i>Alaria crassifolia</i> (チガイソ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
<i>Costaria costata</i> (スジメ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya <i>et al.</i> 1991b
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
<i>Ecklonia cava</i> (カジメ)	葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya & Aruga 1989, '90a
	葉・茎状部	カルス	Kawashima & Tokuda 1990
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya & Aruga 1991a
<i>E.kurome</i> (クロメ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
	葉・茎状部	カルス⇒孢子体	木村・能登谷 1991
<i>E.radiata</i>	茎状部	カルス	Lawlor <i>et al.</i> 1988, '89
<i>E.stolonifera</i> (ツルアラメ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
	葉・茎状部・仮根	カルス	Notoya 1988
<i>Eckloniopsis radicata</i> (アントクメ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
<i>Eisania bicyclis</i> (アラメ)	茎状部	カルス⇒孢子体	Notoya & Aruga 1990b
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya <i>et al.</i> 1991b
<i>Laminaria angustata</i> (ミツイシコンブ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Saga <i>et al.</i> 1978
	茎状部	カルス	Saga & Sakai 1983
<i>L.digitata</i>	葉状部	カルス⇒配偶体⇒孢子体	Fries 1980
<i>L.hyperborea</i>	葉状部	カルス⇒配偶体⇒孢子体	Fries 1980
<i>L.japonica</i> (マコンブ)	葉状部	カルス⇒孢子体	Fang <i>et al.</i> 1983
	葉状部	カルス⇒孢子体	Yan 1984
	葉状部	カルス⇒孢子体	
		カルス⇒配偶体⇒孢子体	桐原他 1991
	培養幼体葉状部	カルス⇒配偶体⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya <i>et al.</i> 1991b
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
<i>L.saccharina</i>	茎状部	カルス⇒配偶体⇒孢子体	Lee 1985
<i>Macrocystis pyrifera</i>	茎状部	カルス	嵯峨 1989
<i>Undaria pinnatifida</i> (ワカメ)	葉状部	カルス⇒孢子体	Fang <i>et al.</i> 1983
	葉状部	カルス⇒孢子体	Yan 1984
	茎状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991b
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	Notoya <i>et al.</i> 1991b
	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c
<i>U.undarioides</i> (ヒロメ)	培養幼体葉状部	カルス⇒孢子体	能登谷・有賀 1991c

考 察

コンブ目植物では、表1に示したとおり、これまでに8属、16種で試みられており、このうち、14種でカルスから胞子体への直接の分化が観察されている。マコンブでは Fang *et al.* (1983)、Yan (1984) が葉状部、能登谷・有賀 (1991) らが培養幼体葉状部を培養して得られたカルスから胞子体を各々得ている。また、Notoya (1990) は培養幼体葉状部から得たカルスから雌雄配偶体を経ての胞子体を分化させている。これらは各々分化形態は異なったが、本実験で、マコンブ基部組織を培養して得られた同一のカルスから、胞子体への直接分化と雌雄配偶体を経た胞子体の形成が観察された。したがって、マコンブにおいて両経路の胞子体分化が同時おこり得ると推察された。

なお、コンブ目植物において組織培養によって分化した胞子体の生長特性や成熟についての検討例はない。今後、カルスから直接分化及び配偶体を経て分化した胞子体と通常の遊走子から発生した種苗の生長を各々比較する予定である。

文 献

- Notoya, M. 1988. *Jap. J. Phycol.* 36 : 302-304.
- Fang, Z., Yan, Z. and Wang, Z. 1983. *Kexue Tongbao* 28 : 247-249
- Yan, Z. 1984. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 11 : 314-316
- 桐原慎二・小田切謙二・能登谷正浩 1991. 青森県水産増殖センター, 20 : 176-181