

優良海藻作出研究

Ⅲ マコンブ茎部の組織培養

桐原 慎二・小田切 譲二・能登谷 正浩 (東京水産大学)

マコンブの生活史には、図1に示したとおり、漁場で通常に観察される大型の孢子体期と、微小なため観察されにくい配偶体期の両ステージを持つ。孢子体のみが漁獲対象となるため、養殖用マコンブ種苗には、雌雄の配偶体から発生した幼葉が、一般に用いられているが、採苗時に配偶体期を経るため、母藻と種苗の遺伝形質は必ずしも各々一致しない。従って、作出した産業上優良な藻体から、均一な優良遺伝形質を持つ種苗を効率よく生産するためには、母藻から配偶体期を経ずに、直接種苗とする幼葉を獲得する必要がある。筆者らは、マコンブ孢子体から直接種苗用の孢子体を得る技術開発を目的に、マコンブ茎部(孢子体)から摘出した組織を培養し、カルス(細胞塊)を形成させ、孢子体への分化を試みたので、結果を以下に報告する。

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日にその茎部組織の5mm角を能登谷(1988)の方法に従い、図2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℃、2000lux、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0.5ml、10mg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℃、7日以内培養しておこなった。

結 果

固形培地上で培養した組織片(A)は、培養1週間目には組織の一部に再生細胞が認められ(B)、培養約2月後にはそれが肉眼で確認できるまでに生長した(C)。培養59日後の1987年9月5日に、組織片から再生した細胞部分を切り放し、100mlのグラント改変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(D)。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(E)。培養3年目の1990年6月1日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、これを約5mm角になるように細断して、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。植え継ぎ後3か月で、細断した培養細胞塊のうち、色素を有する細胞の先端が伸長方向に対して垂直な分裂を繰り返し、次いで縦方向の分裂も認められ、葉状形

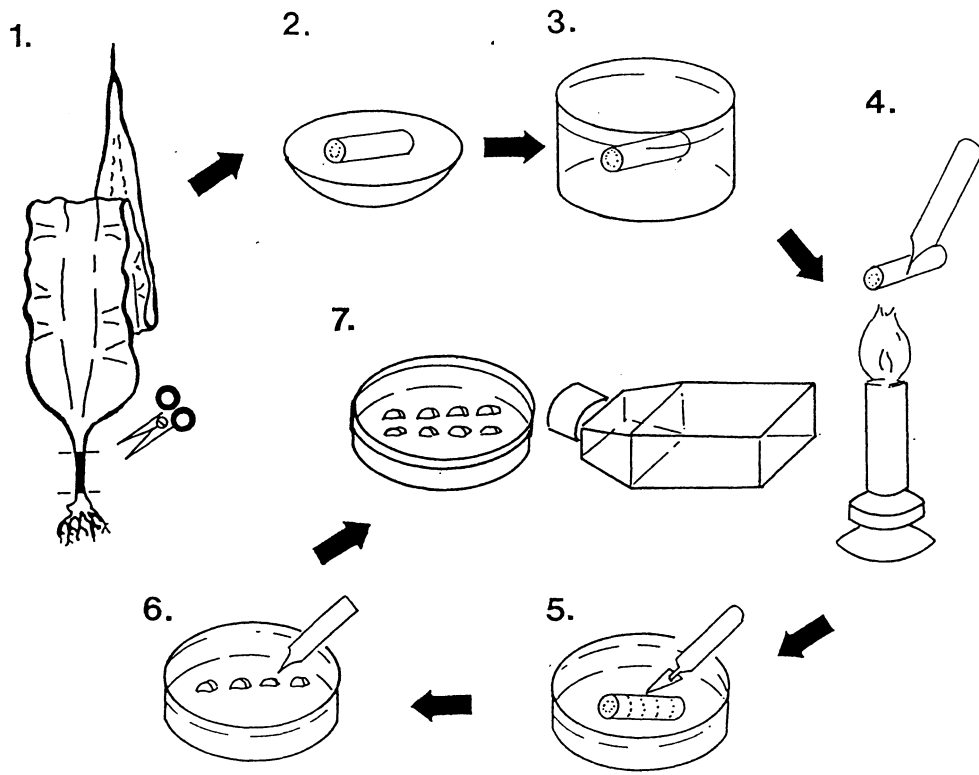


図2 組織培養の手順, 1 : 基部組織の摘出、2 : 付着物の拭去、3 : 100 %エチルアルコール液中に浸漬滅菌、4 : エチルアルコールの焼却、5 ; 組織の細断、6 : 固形培地上に置く、7 : 液体培地での培養

態への分化が観察された (F)。さらに、植え継ぎ 6 か月後には葉長 3 mm 前後の葉状体 (孢子体) がカルス上に観察された。

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ものと推察された。

考 察

コンブ目植物では、表 1 に示したとおり、これまでに 6 属、12 種で試みられており、このうち、7 種でカルスから孢子体への分化が観察されている。マコンブでは Fang et al. (1984), Yan (1984) が葉状部、能登谷 (1990) が培養藻体幼葉から各々カルスを形成させ、孢子体を得ているが、本実験結果から、マコンブの基部組織から形成したカルスからも孢子体へ分化することが確認された。なお、コンブ目植物において組織培養により、配偶体期を経ずに分化した孢子体の成熟について、これまで検討した報告がない。このため、今後、本実験で得られた孢子体を、沖出し、養成して、その生長、成熟を、通常に卵から発生した種苗のそれらと比較する予定である。

なお、本実験において、カルスは配偶体期を経ることなく直接孢子体へと分化したが、他の培養細胞の一部に、雌雄配偶体様細胞の形成が観察された。コンブ目植物の組織培養で、雌雄配偶体期を経て孢子体が形成された報告は、孢子体へ分化した 15 例のうち 4 例ある (表 1)。今後、本培養細胞において卵形成及び発生について検討する予定である。

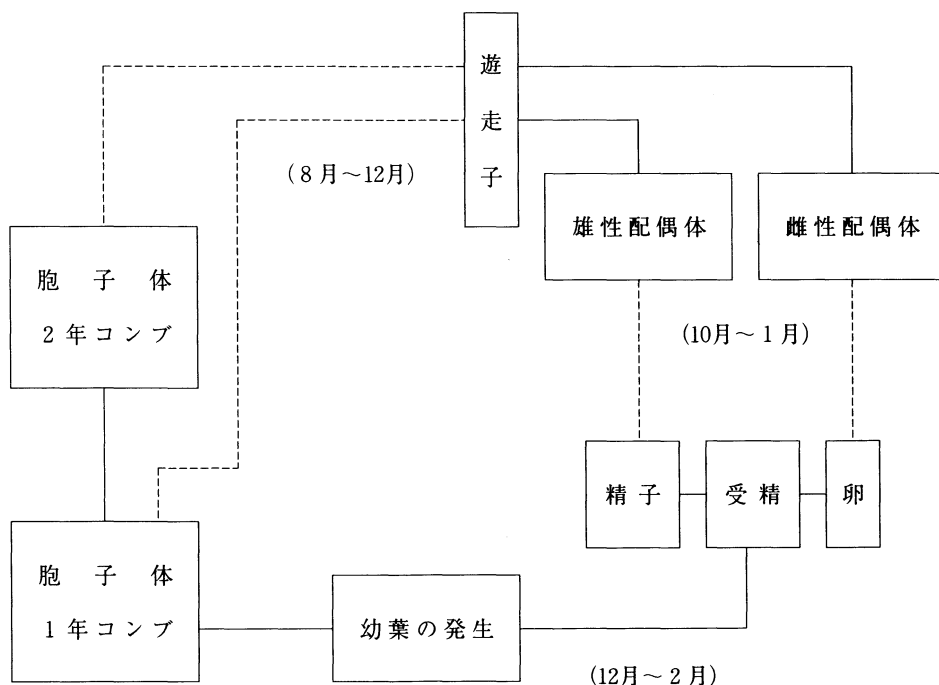


図 1 青森県におけるマコンブの生活史 (— : 生長、 ---- : 放出)

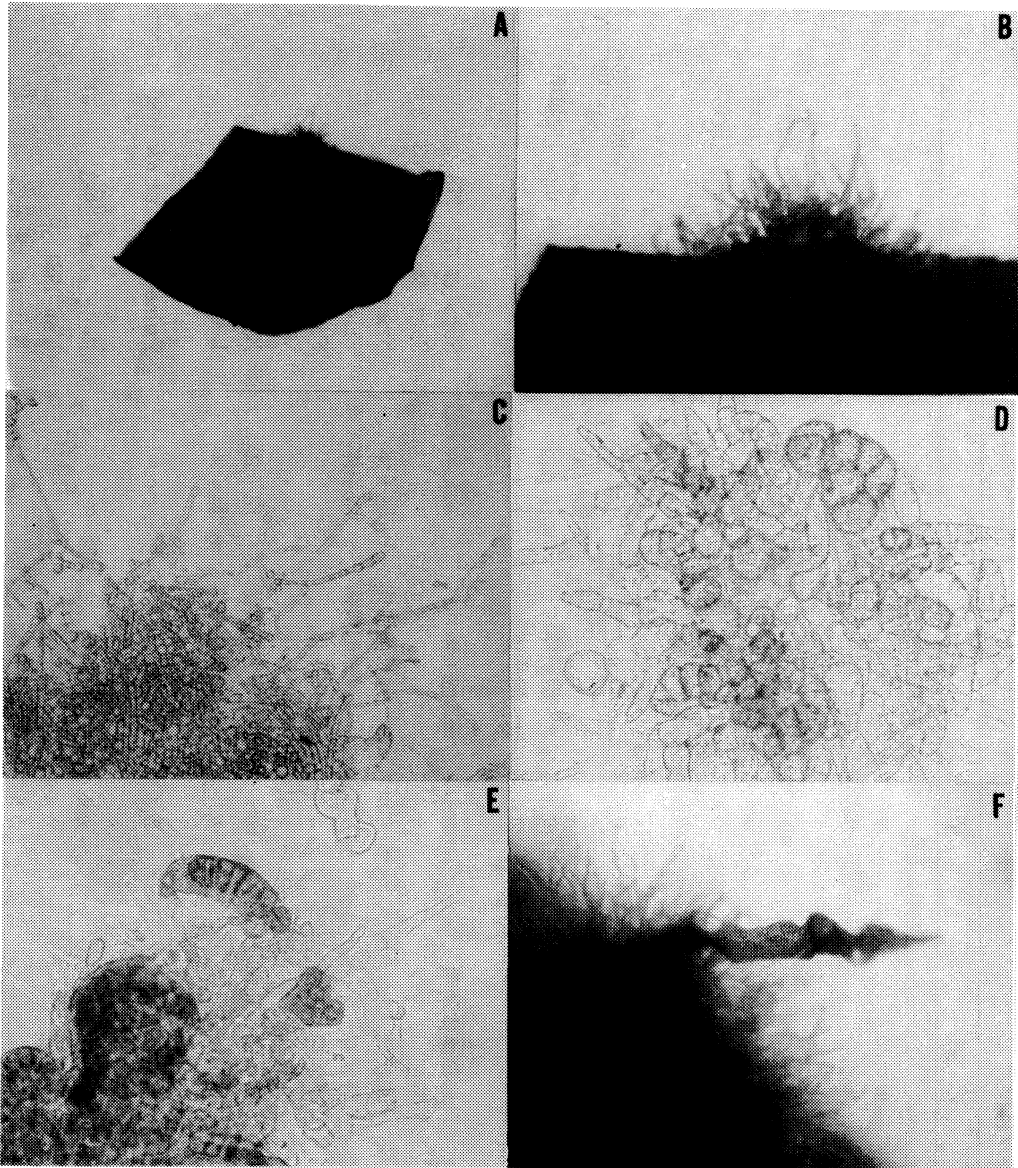


図3 マコンプ基部から培養した細胞。A：固形培地上の基部組織と再生細胞（×10）、B：再生細胞（×20）、C：カルス構成細胞（×250）、D：カルス構成細胞（×250）、E：葉上細胞への分化（×250）、F：形成された幼葉（×15）。

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 |
|-------------------------------------|----------|-------------------|---------------------------------|
| Ecklonia属 | | | |
| <i>Ecklonia stolonifera</i> (ツルアラメ) | 葉状部 | カルス | Notoya 1988 |
| | 茎部 | カルス | Notoya 1988 |
| | 仮根部 | カルス | Notoya 1988 |
| <i>E. cava</i> (カジメ) | 葉状部 | カルス → 孢子体 | Notoya & Aruga 1989 |
| | 培養藻体幼葉 | カルス → 孢子体 | Notoya & Aruga (投稿中) |
| | 培養単為発生幼体 | カルス → 孢子体 | Notoya & Aruga (投稿中) |
| <i>E. radiata</i> | 茎部 | カルス | Heather <i>et al.</i> |
| Egregia属 | | | |
| <i>Egregia menziesii</i> | 茎部 | カルス | Polne-Fuller & Gibor 1987 |
| Eisenia属 | | | |
| <i>Eisenia bicyclis</i> (アラメ) | 茎部 | カルス → 孢子体 | Notoya & Aruga (投稿中) |
| | 培養藻体幼葉 | カルス → 孢子体 | Notoya (未発表) |
| Laminaria属 | | | |
| <i>L. angustata</i> (ミツイシコンブ) | 培養藻体幼葉 | カルス → 孢子体 | Saga <i>et al.</i> 1978 |
| | 茎部 | カルス | Saga & Sakai 1983 |
| <i>L. digitata</i> | 葉状部 | カルス → 雌雄配偶体 → 孢子体 | Fries 1980 |
| <i>L. hyperborea</i> | 葉状部 | カルス → 雌雄配偶体 → 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 |
| | 培養藻体幼葉 | カルス → 雌雄配偶体 → 孢子体 | Notoya (投稿中) |
| <i>L. saccharina</i> | 茎部 | カルス → 雌雄配偶体 → 孢子体 | Lee 1985 |
| Macrocystis属 | | | |
| <i>Macrocystis Pyrifera</i> | 茎部 | カルス | Polne-Fuller <i>et al.</i> 1986 |
| Undaria属 | | | |
| <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 |
| | 茎部 | カルス → 孢子体 | Notoya (未発表) |

文 献

- Fang, Z., Yan, Z. and Wang, Z. 1983. Some preliminary observations on tissue culture in *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. *Kexue Tongbao* 28 : 247-249.
- Yan, Z. 1984. Studies on tissue culture of *Laminaria japonica* and *Undaria pinnatifida*. *Proc. Int. Seaweed Symp.* 11 : 314-316.
- Notoya, M. and Aruga, Y. 1990. Tissue culture from the explant of stipe of *Eisenia bicyclis* (Kjellman) Setchell.