

ヒロメ *Undaria undarioides* (Yendo) Okamura は暖海性のコンブ目植物で直接黒潮の影響をうける房総半島南部、紀伊半島から宮崎県、九州東岸および北岸、隠岐島に分布する日本特産種である。和歌山県南部地方では古くから天然の藻体を採取し、ワカメと同様食用としている。1972年に養殖方法が確立され、以来一部の漁業協同組合では自家消費としてのみ養殖され、市場にでることはなかった。しかし、1986年頃から天然に繁茂する藻体が減少してきたため、市場への出荷を目的とした養殖が始められた。養殖藻体の取り引き価格は2月下旬の天然藻体出荷以前は600~800円/Kg(湿重量)であるが、それ以降は天然藻体が市場に出始めるため200円/Kg(湿重量)にまで下落する。そこで当試験場ではヒロメが少しでも早くに出荷できるよう促成栽培技術の開発試験を行っている。その一環として促成栽培品種の固定を目的に組織培養方法を検討した。

表1にいままでにコンブ目植物で組織培養に成功した種を示す。ワカメ属ではFangら¹⁾やYan²⁾がワカメの葉体を培養することによりカルス細胞が形成されたこと、このカルス細胞を栄養添加培地で培養した結果、直接胞子体が再生したことを、能登谷ら³⁾はワカメ胞

表1. これまでに行われたコンブ目植物の組織培養(能登谷⁵⁾)

種名(和名)	組織	結果	文献
<i>Alaria crassifolia</i> (チガイソ)	培養幼芽胞体 莖部	カルス⇒胞子体 カルス	能登谷・有賀 1991c Notoya (未発表)
<i>Costaria costata</i> (スジメ)	培養幼芽胞体 葉部	カルス⇒胞子体 カルス	能登谷・有賀 1991c Notoya (未発表)
<i>Ecklonia cava</i> (カジメ)	葉部 培養幼芽胞体	カルス⇒胞子体 カルス⇒胞子体	Notoya & Aruga 1989, '90a Notoya & Aruga 1991a
<i>E. kurose</i> (クロメ)	培養幼芽胞体 葉・莖部	カルス⇒胞子体 カルス⇒胞子体	能登谷・有賀 1991c 木村 (未発表)
<i>E. radiata</i>	莖部	カルス	Lawlor et al. 1989
<i>E. stolonifera</i> (ツルアラメ)	培養幼芽胞体 葉・莖・仮根部	カルス⇒胞子体 カルス	能登谷・有賀 1991c Notoya 1988
<i>Eckloniopsis radicata</i> (アントクメ)	培養幼芽胞体 莖部	カルス⇒胞子体 カルス	能登谷・有賀 1991c Polne-Fuller & Gibor 1987
<i>Egregia menziesii</i>	莖部	カルス⇒胞子体	Notoya & Aruga 1990b
<i>Eisenia bicyclis</i> (アラメ)	培養幼芽胞体 葉・莖部	カルス⇒胞子体 カルス	能登谷他 1991 Notoya (未発表)
<i>Kjellmaniella crassifolia</i> (ガゴメ)	培養幼芽胞体 莖部	胞子体 カルス	Saga et al. 1978 Saga & Sakai 1983
<i>Laminaria angustata</i> (ミツイシコンブ)	葉部	カルス⇒配偶体⇒胞子体	Fries 1983
<i>L. digitata</i>	葉部	カルス⇒配偶体⇒胞子体	Fries 1983
<i>L. hyperborea</i>	葉部	カルス⇒胞子体	Fang et al. 1983
<i>L. japonica</i> (マコンブ)	葉部 葉部	カルス⇒胞子体 カルス⇒胞子体	Yan 1984
		カルス⇒配偶体⇒胞子体	桐原他 1991
	培養幼芽胞体	配偶体⇒胞子体	能登谷・有賀 1990d
	培養幼芽胞体	カルス⇒胞子体	能登谷・有賀 1991c
<i>L. saccharina</i>	莖部	カルス⇒配偶体⇒胞子体	Lee 1985
<i>Macrocystis pyrifera</i>	莖部	カルス	Polne-Fuller & Gibor 1987
<i>Undaria pinnatifida</i> (ワカメ)	葉部 葉部	カルス⇒胞子体 カルス⇒胞子体	Fang et al. 1983 Yan 1984
	莖部	カルス⇒胞子体	能登谷・有賀 1990b
	培養幼芽胞体	カルス⇒胞子体	能登谷・有賀 1991c
<i>U. undarioides</i> (ヒロメ)	培養幼芽胞体	カルス⇒胞子体	能登谷・有賀 1991c

能登谷らはワカメ胞子体の葉部や茎部の組織からカルス細胞が形成され、そのカルス細胞を栄養塩なしの人工海水培地で培養すると胞子体になったことを報告している。また、能登谷ら⁴⁾はコンブ目植物数種の培養幼芽胞体の組織培養を試みた結果、ワカメ、ヒロメの培養幼芽胞体からカルス細胞が形成されるとともに、雌性配偶体、雄性配偶体を経過し、胞子体にまで再生したことを報告している。本報告では天然に繁茂するヒロメの茎部組織を用いてカルス細胞を作出するとともに、このカルス細胞から胞子体が再生される過程を報告する。

材料および方法

試験には1994年4月20日に田辺市の元島地先で採取した天然ヒロメの茎の髓組織を図1に示す常法によりASP₁₂-NTA寒天培地（寒天1.5%）で培養した。培養温度は20℃、培養照度は3,000Lux、12明：12暗の条件で行った。培養中、カルス細胞が観察された場合はカルス細胞を細断し、滅菌海水で3回洗浄した後、再生試験に供した。

再生試験は黒潮外洋水（潮岬沖合30マイル）ベースのPESI液体培地が2ml入った24穴のマルチウェルプレートへ2～5細胞ずつ入れ、培養温度22℃、光条件は暗、1,000、3,000、5,000、8,000、10,000Luxの6条件で培養した。光周期は12明：12暗とした。培地は5日に1回の割合で交換するとともに、そのたびに顕微鏡観察を行いカルス細胞の増殖状況、再生状況を観察した。

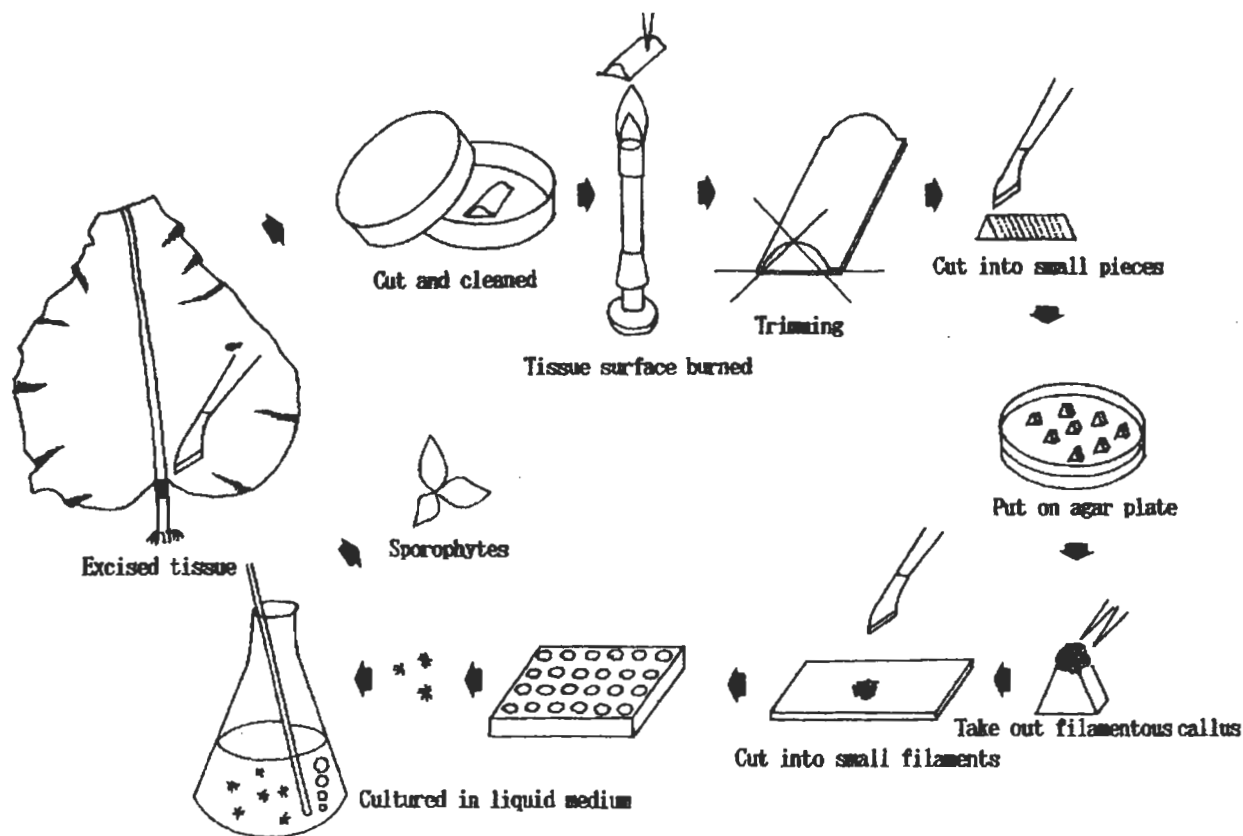


図1. ヒロメの組織培養方法

結果および考察

組織培養の経過を図2に示す。茎の髓組織は培養2ヶ月後にわずかに綿毛状の白色細胞が観察されるだけであったが、培養3ヶ月後には組織内に茶褐色の細胞が認められ始め(図2 A)、培養5ヶ月後には茶褐色の綿毛状細胞が髓組織表面に密生した(図2 B、C)。細胞は1個が10~15 μ の大きさであり、配偶体様の形態をしていたが、雌雄の判別はつかなかった(図2 D)。この細胞を細断してPESI液体培地にて培養した結果、培養5日目には配偶体様細胞の増殖が認められ(図2 E)、培養1ヶ月後には雌性配偶体と雄性配偶体に分化し始め、中には成熟した配偶体も認められた(図2 F)。培養40日目には雌性配偶体から幼芽胞体が確認され(図2 G)、この芽胞体をPESI液体培地で22 $^{\circ}$ C、3,000Lux、12明:12暗の条件で通気培養することにより藻体は大きくなった(図2 H)。

配偶体様細胞の生長を光条件別に観察した結果、細胞の生長は明るい方が良好で10,000Luxでは培養35日後には培養当初の約200倍の面積となったが成熟や胞子体への再生は認められなかった。しかし、3,000、5,000Luxではそれぞれ培養25日後、30日後に成熟や胞子体への再生が確認された(図3)

これまでコンブ目植物の組織培養では、培養によって得られた幼胞子体組織を用いる方法と、天然藻体の葉状部や茎部組織を用いる方法が報告されている。前者ではカルス形成および増殖が速く、また葉体への再生が種によっては2週間以内と短期間に認められるものの、親の胞子体の形質は不明である。後者の場合は一般にカルス形成から葉体への再生までに6ヶ月から2年の長期間を要するものの、親の形質が明らかである。育種を目的に組織培養を行うためには後者の手法により葉体を再生する必要がある。

ここでは天然ヒロメの茎の髓組織を用いて組織培養を試みた結果、培養5ヶ月後にはカルス細胞が形成され、カルス細胞を液体培地を用いて培養温度22 $^{\circ}$ Cという高温条件で培養することによって1ヶ月という短期間に胞子体への分化が認められた。すなわちクローン個体の再生が可能となった。このことから養殖藻体の中でとくに生長の早い藻体を用いて組織培養を行うことによって品種の固定化が可能と推察された。

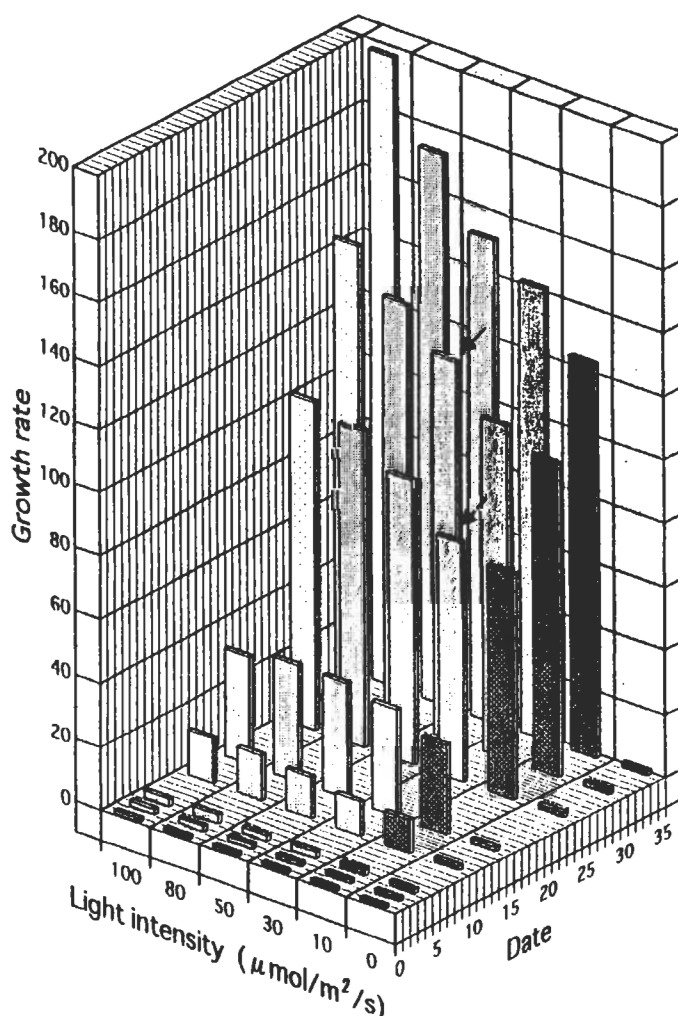


図3. 異なった光条件下におけるカルス細胞の増殖比率と再生胞子体の出現期。
→: 再生胞子体を確認されたとき

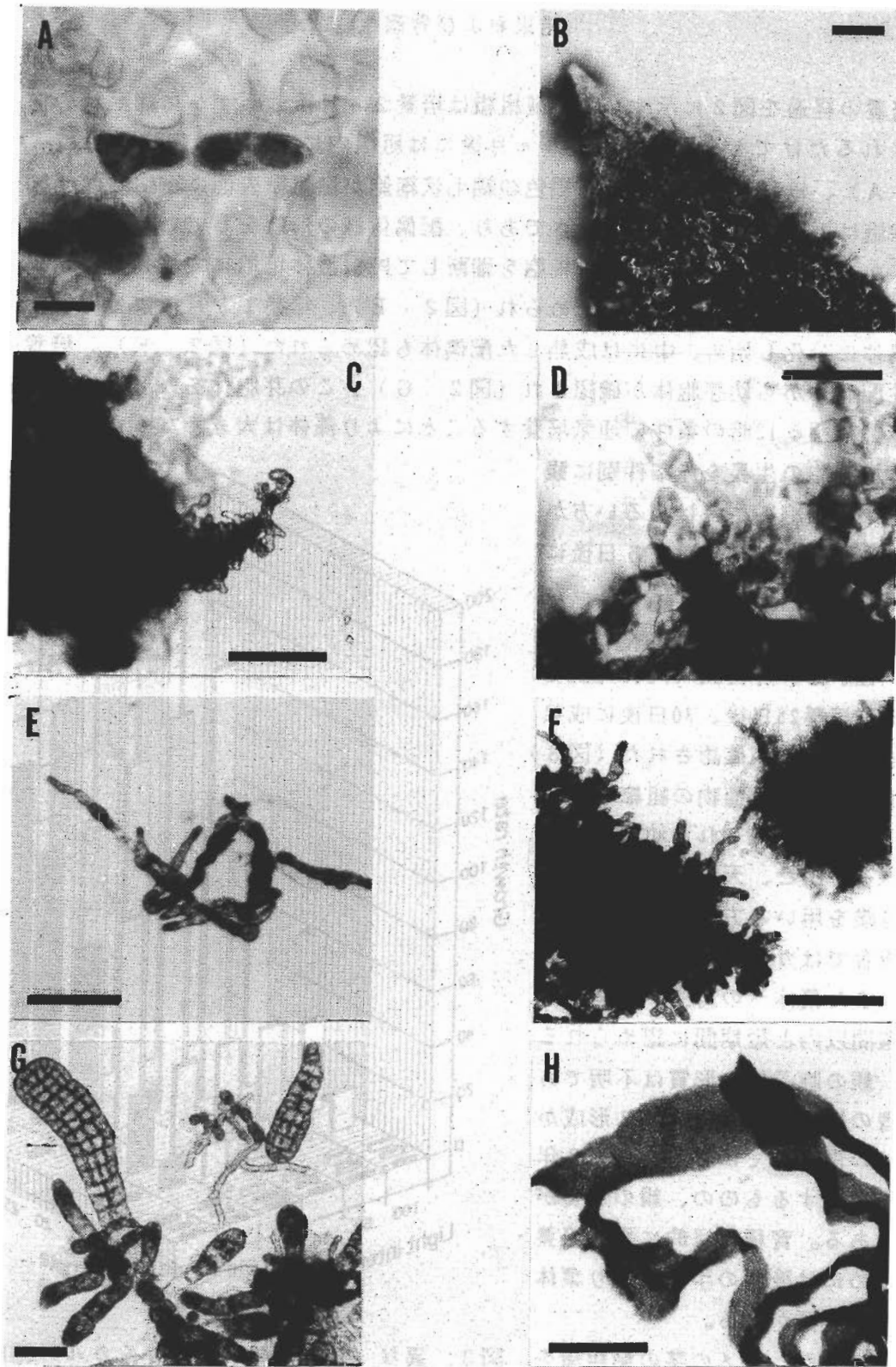


図2. ヒロメの茎の髄組織を用いた組織培養経過.

(A) 茎の髄組織中に出現した茶褐色細胞 (B) 茎の髄組織上に出現した綿毛状のカルス細胞 (C) (D) カルス細胞の拡大図 (E) カルス細胞培養5日目の細胞 (F) カルス細胞培養中に出現した雌性配偶体並びに雄性配偶体 (G) カルス細胞培養40日目に再生した幼孢子体 (H) 通気培養で大きくなったヒロメ棒のサイズ A : 10 μ . B, H : 1 mm. D : 50 μ . 他は100 μ .

参考文献

- 1) Fang, Z., Z. Yan and Z. Wang (1983): Some preliminary observation on tissue culture in Laminaria japonica and Undaria pinnatifida. Kexue Tongbao 28 , 247-249.
- 2) Yan, Z. (1984): Studies on tissue culture of Laminaria japonica and Undaria pinnatifida. Hydrobiology, 116/117, 314-316.
- 3) Notoya, M. and Y. Aruga (1990): Formation of aposporous gametophyte from differentiated young sporophyte cell on Laminaria japonica Areschoug (Laminariales, Phaeophyta). Abstracts of Papers Presented in Autumn Meeting of Japanese Society of Scientific Fisheries, 88.
- 4) Notoya, M. and Y. Aruga (1991): Callus development from young sporophytes of several species of Laminariales (Phaeophyta). Proceedings of the 56th Annual Meeting of the Botanical Society of Japan, 185.
- 5) Notoya, M., M. Nagashima and Y. Aruga (1992): Influence of light intensity and temperature on callus development in young sporophytes of four species of Laminariales (Phaeophyta). The Korean Journal of Phycology, 7, 101-107.