

## IV 新品種作出技術開発事業

### ホンダワラ類 2 種とヒジキの組織培養\*

木 村 創

#### 目 的

ホンダワラ類はアラメ・カジメと共に藻場の構成種であり、これの人工採苗技術が一般化されれば、現在採苗技術が普及しているアラメ・カジメに加え藻場造成種の多様化が計られる。ところがホンダワラ類の人工採苗は奥田<sup>1)</sup>や月館<sup>2)</sup>によって成功しているが、成熟する期間が短いこと、放出される卵数がコンブ目植物で放出される孢子数より極端に少なく、卵や幼胚が珪藻に覆われて生長できないことから一般的な技術とはなっていない。このように卵からの人工採苗技術は進展していないが、組織培養では南アフリカのMooneyとStaden<sup>3)</sup>が*Sargassum heterophyllum*の仮根の組織片から直接初期葉が、藤川ら<sup>4)</sup>はフシスジモクの体細胞組織から再生細胞、カルス細胞、初期葉が形成されたことを報告している。このような既往知見をもとに'95年度は本県の海岸に一般的に繁茂しているトゲモク、アカモク、ヒジキの組織培養による採苗条件の検討を行った。

#### 材料及び方法

材 料：トゲモクは'95年12月3日美浜町三尾地先水深5mで、アカモクは'95年12月23日和歌山市加太地先水深2mで、ヒジキは'95年1月13日田辺市元島地先の潮間帯でそれぞれ採取したものを材料として用いた。

培養方法：トゲモクは主枝、仮根部、腋芽の生じた主枝部の組織を、アカモクは主枝、仮根部、生長

点付近の組織を、ヒジキは主枝、仮根部の組織をそれぞれ切り出し、図1に示す方法により、2mm角の組織片をPESI液体培地の入った25ml容の培養フラスコとASP<sub>12</sub>-NTA寒天培地の入ったシャーレに移した。培養は温度10、15、20、25、30℃、光量3,000Lux、光周期12L:12Dの条件で静置により行った。なお、20℃のみ光量5,000Luxの試験区を設けた。その後、ほぼ10日毎に培地交換を行い、同時に組織片の状態を実体顕微鏡により観察した。初期葉が形成された場合は1組織片当たりの初期葉数、1主枝当たりの枝数を計数するとともに、第1葉長、主枝長を測定した。1組織片当たりの初期葉数と1主枝当たりの枝数は平均値で示し、第1葉長と主枝長は培養組織中最も大きなもので示した。その後、初期葉はPESI液体培地の入った500ml容三角フラスコに移し(図1)、温度20℃、光量5,000Lux、光周期14L:10Dの条件で通気培養を行った。なお換水は5日毎に行った。

#### 結果及び考察

本試験で用いたトゲモク、アカモク、ヒジキの組織片からは再生細胞やカルス細胞は認められず、直接初期葉が形成された(図2)。表1に各藻類の部位別、培養条件別の初期葉出現状況を示す。

トゲモクは20℃以上で培養した腋芽の出た主枝部(表では分枝部と表示)の髄組織から初期葉が観察されたが、主枝部や仮根部からの初期葉形成は認められなかった。出現状況は20℃5,000Lux、25、30

\* 新品種作出技術開発費による。

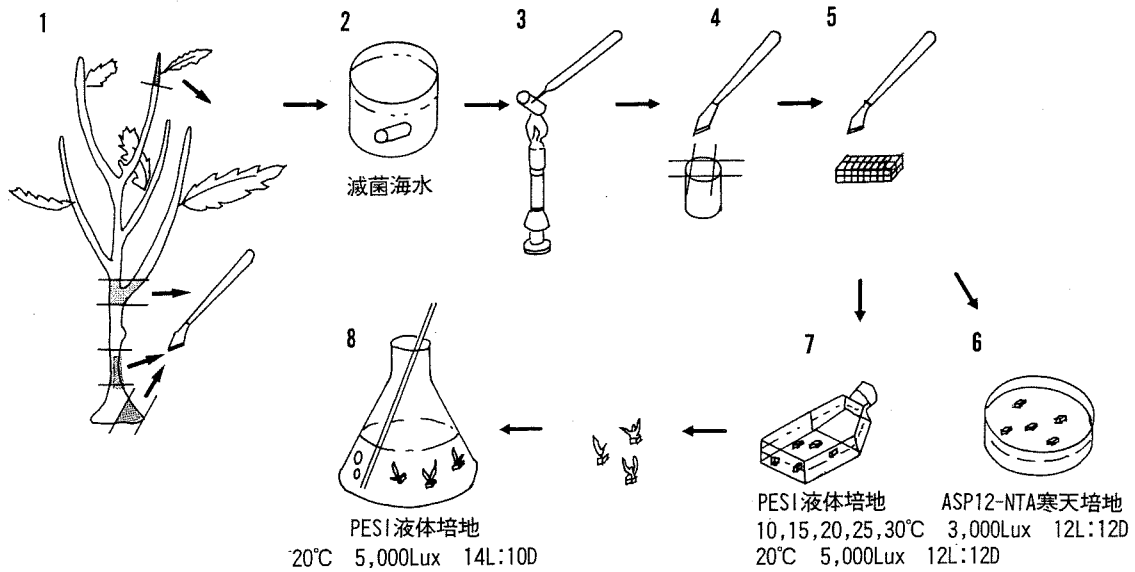


図1 ホンダワラ類の組織培養方法

1: 組織の抽出    2-3: 組織の滅菌    4: 髄組織の切り出し  
 5: 組織の細断    6-7: 静置培養    8: 初期葉の通気培養

図1 ホンダワラ類の組織培養方法

1: 組織の抽出    2-3: 組織の滅菌    4: 髄組織の切り出し  
 5: 組織の細断    6-7: 静置培養    8: 初期葉の通気培養

表1 培養条件別、部位別の初期葉出現状況

トゲモク

培養条件		主枝部	分枝部	仮根部
10°C	3,000Lux	0/9	0/9	0/9
15°C	3,000Lux	0/9	0/9	0/9
20°C	3,000Lux	0/9	1/9	0/9
20°C	5,000Lux	0/9	4/9	0/9
25°C	3,000Lux	0/9	4/9	0/9
30°C	3,000Lux	0/9	4/9	0/9

アカモク

培養条件		主枝部	生長点部	仮根部
10°C	3,000Lux	0/6	0/6	3/6
15°C	3,000Lux	0/6	1/6	2/6
20°C	3,000Lux	0/6	1/6	2/6
20°C	5,000Lux	0/6	3/6	3/6
25°C	3,000Lux	0/6	0/6	2/6
30°C	3,000Lux	0/6	0/6	0/6

ヒジキ

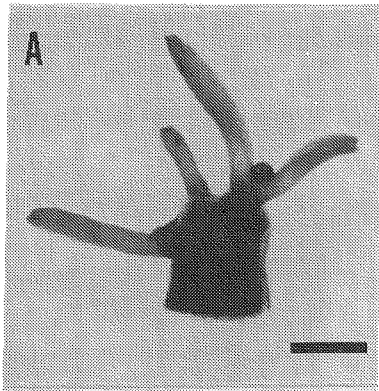
培養条件		主枝部	仮根部
10°C	3,000Lux	0/10	10/14
15°C	3,000Lux	0/10	11/14
20°C	3,000Lux	0/10	11/14
20°C	5,000Lux	0/10	14/18
25°C	3,000Lux	0/10	5/11
30°C	3,000Lux	0/10	3/9

°Cでは培養した組織片のほぼ半数から初期葉が形成された。

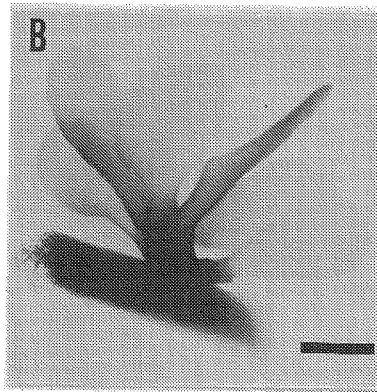
アカモクは15~20°Cで培養した生長点付近の組織と25°C以下で培養した仮根部の髄組織から初期葉形成が認められたが、主枝部からの初期葉形成は認められなかった。出現状況は仮根部では25°C以下、生長点付近の細胞からは20°C5,000Luxの条件で半数の初期葉形成が認められた。

ヒジキでは主枝部からの初期葉は認められなかったが、仮根部の髄組織からは本試験で試みた全ての培養条件で初期葉が認められた。孫ら<sup>5)</sup>はヒジキの主枝に近い仮根部の組織をPESI寒天培地で培養するとカルス細胞に分化し、そこから初期葉が形成されたことを報告している。しかし、本試験では寒天培地においても液体培地においてもカルス細胞に分化することはなく、液体培地で栽培した組織片から直接初期葉が形成された。初期葉の出現状況は20°C以下で好成績である。

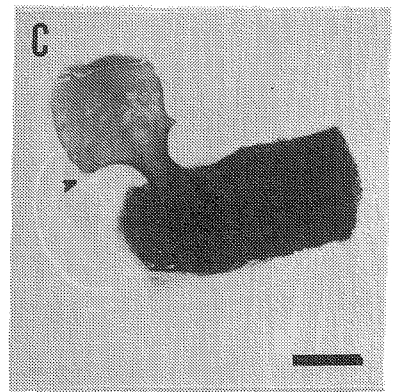
トゲモク



PESI液体培地  
25°C, 3,000Lux, 培養35日目



PESI液体培地  
25°C, 3,000Lux, 培養70日目

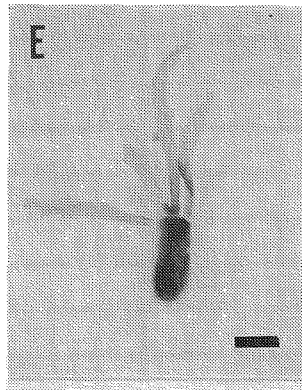


ASP<sub>12</sub>-NTA寒天培地  
20°C, 3,000Lux, 培養60日目

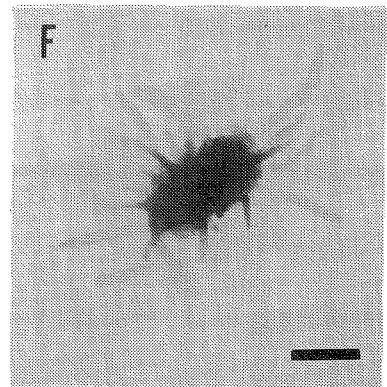
アカモク



PESI液体培地 (生長点)  
20°C, 5,000Lux, 培養60日目

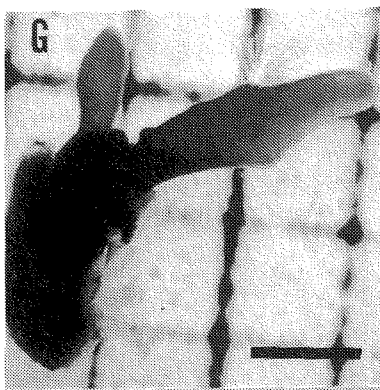


PESI液体培地 (仮根部)  
20°C, 5,000Lux, 培養60日目

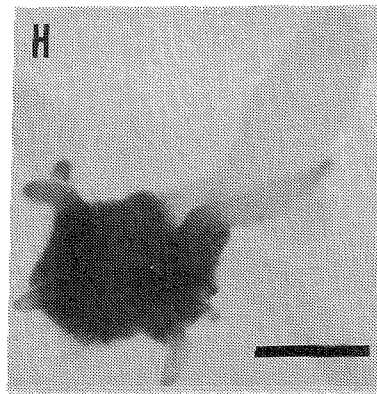


PESI液体培地 (仮根部)  
20°C, 3,000Lux, 培養70日目

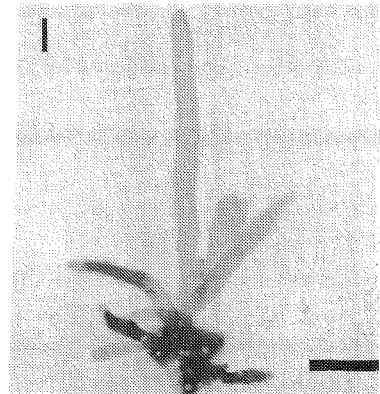
ヒジキ



PESI液体培地  
20°C, 3,000Lux, 培養14日目



PESI液体培地  
20°C, 3,000Lux, 培養40日目



PESI液体培地  
20°C, 3,000Lux, 培養54日目

図2 各藻類の培養経過 (一は1mmを示す).

寒天培地を用いた培養ではヒジキやアカモクに変化は認められなかったが、トゲモクの腋芽の生じた主枝部の組織片からは20, 25℃の培養条件で培養50日目に初期葉が観察された(図2-C)。

図3にトゲモクの腋芽の生じた主枝部の髓組織1個当たりの初期葉数, 1主枝当たりの枝数, 第1葉長, 主枝長の培養条件別生長状況を示す。初期葉の形成は培養36日目に前述のように20℃5,000Lux, 25, 30℃で確認され, 20℃3,000Luxは培養43日目に確認された。しかし, 15℃以下の低温区では初期葉の形成は認められなかった。1組織片当たりの初期葉数は20℃5,000Luxで培養80日後に平均5.6本と最も多く, 次いで25, 30, 20℃3,000Luxの順となっ

た。1主枝当たりの枝数は2~3本とほとんど差は認められず, わずかに25℃培養区が優っていた。第1葉長と主枝長の生長は25℃で培養80日目にはそれぞれ5.5mm, 2.8mmと最も良く, 次いで20, 30mmとなった。20℃では高照度の方が生長は良好であった。以上のことからトゲモクの組織培養による採苗条件は腋芽の生じた主枝部の髓組織を用いて25℃で培養するのが良いと考えられた。

図4にアカモクの仮根部組織片1個当たりの初期葉数, 1主枝当たりの枝数, 第1葉長, 主枝長の培養条件別生長状況を示す。初期葉形成は15, 20℃で32日目に, 10, 25℃ではやや遅れて50日目に観察されたが, 30℃では認められなかった。1組織片当た

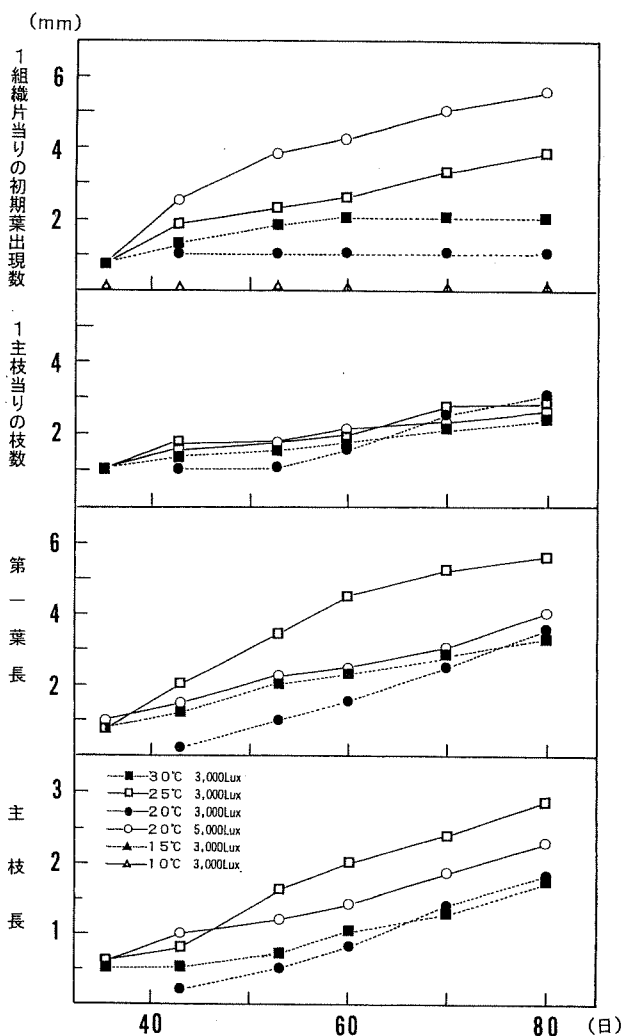


図3 各培養条件における初期葉の生長(トゲモク)

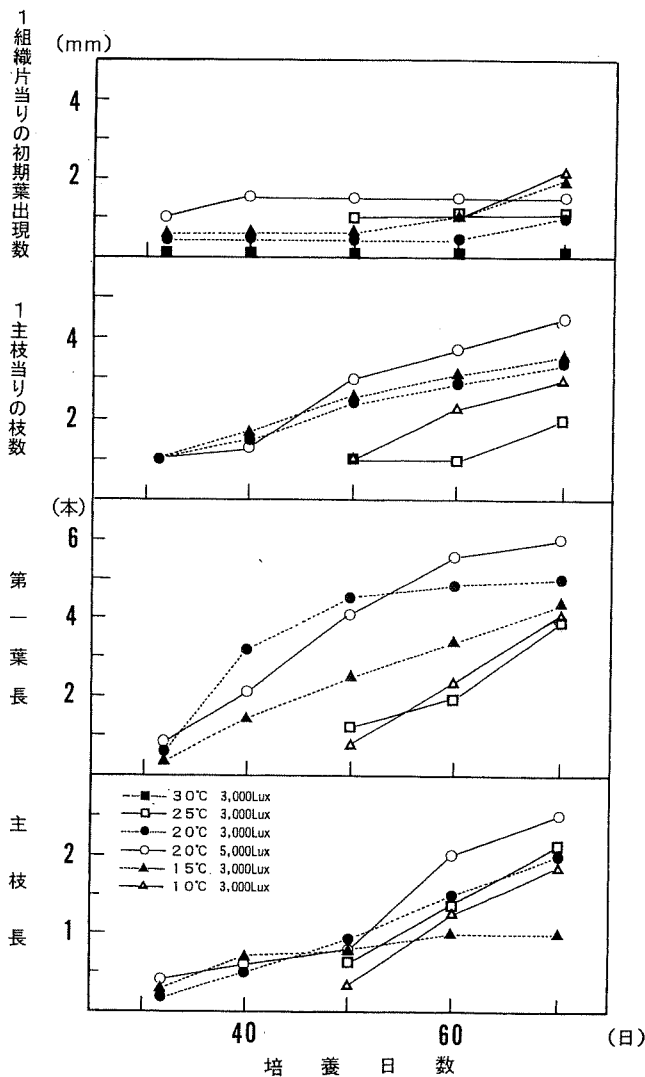


図4 各培養条件における初期葉の生長(アカモク)

りの初期葉数は前記のトゲモクに比べると少なく、10℃培養70日目の2本が最も多く、以下15、20、25℃の順となった。このように本種は初期葉形成は劣るが、1主枝当たりの枝数は20℃5,000Luxで平均4.3本と多く、次いで15、20℃3,000Lux、10、25℃の順となった。第1葉長、主枝長の生長は20℃5,000Luxでの培養が70日目にそれぞれ6.0mm、2.5mmで最も良かった。また、アカモクの仮根部を液体培地で培養した場合、組織片の周囲からヒゲ状に初期葉が形成されるのが観察された(図2-F)。以上のことからアカモクの組織培養による採苗条件は生長点付近か仮根部の組織片を用いて20℃5,000Luxで培養するのが良いと考えられた。

図5にヒジキ仮根部組織片1個当たりの初期葉数、1主枝当たりの枝数、第1葉長、主枝長の培養条件別生長状況を示す。ヒジキは培養14日目に15℃以上で、10℃ではやや遅れて21日目に初期葉が観察された。1組織片当たりの初期葉数は培養54日目に15℃が平均2.9本と最も多く、次いで20、10、25、30℃の順となり、20℃では高照度の方が多く形成された。1主枝当たりの枝数は20℃5,000Luxが培養54日目に平均2.5本と最も多く、次いで25、20℃3,000Lux、15、10、30℃の順となった。第1葉長や主枝長の生長は15、20℃で最も良く、次いで25、10、30℃の順となった。20℃の培養では第1葉長の生長は照度による差は認められなかったが、主枝長は低照度の方が良かった。以上のことからヒジキの組織培養を用いた採苗は仮根部の組織片を用いて15~20℃で培養するのが良いと考えられた。

その後、それぞれの組織片を通気培養した結果、トゲモクやアカモクは培養1ヶ月ほどで葉長1~2cmの幼体にまで生長した(図6)。

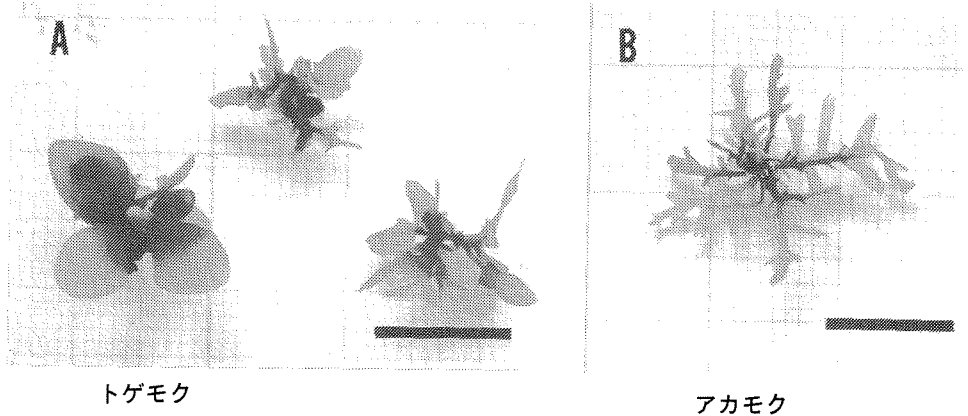


図6 通気培養1ヶ月後の各藻類の状況(一は1cm)

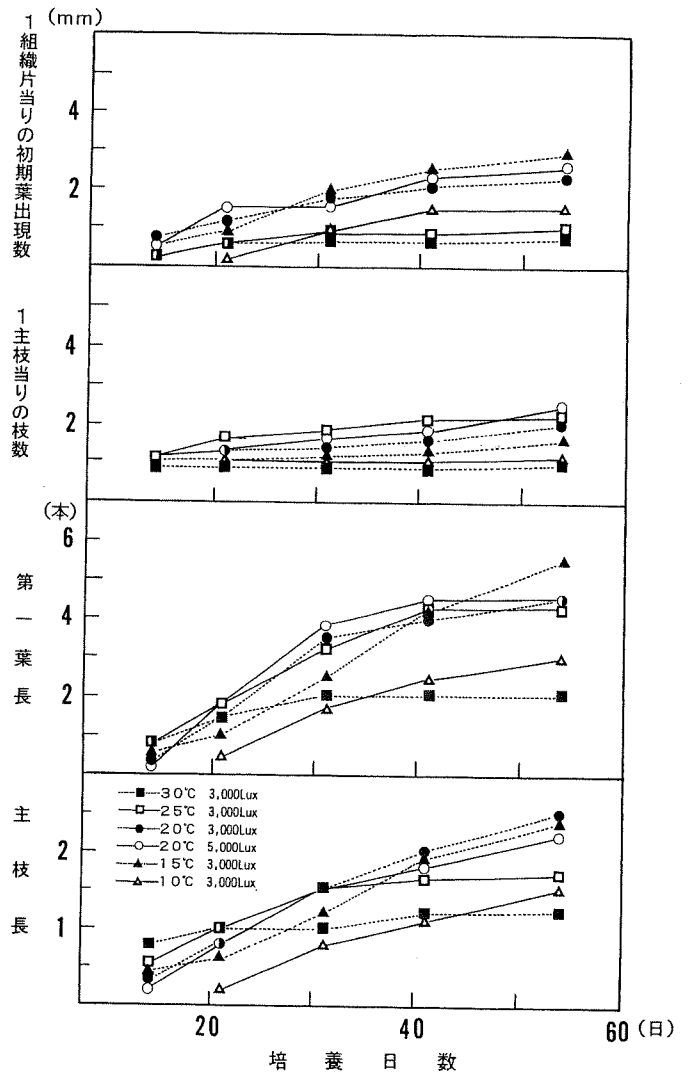


図5 各培養条件における初期葉の生長(ヒジキ)

このことからトゲモク, アカモク, ヒジキは組織培養による採苗の可能性が示されたが, 今のところどの組織片からも仮根部の形成は認められておらず, また主枝の生長も遅い, 今後, 仮根形成や主枝生長のための条件(温度, 照度, 光周期, ホルモン等)を検討する必要がある。

## 文 献

- 1) 奥田武雄, 1985: ホンダワラ類における幼胚の入手と着生機構, 月刊海洋科学, 17, 4-10.
- 2) 月館潤一, 1985: ガラモ場の造成, 月刊海洋科学, 17, 44-49.
- 3) Pauline A. Mooney and J. van Saden, 1985: In vitro plantlet formation and multiple shoot induction in *Sargassum heterophyllum*, *S-Afr. Tydskr. Plantk.*, 51 (1), 41-44.
- 4) 藤川義一, 桐原慎二, 1996: 褐藻フシスジモクの組織培養, 日本海ブロック試験研究収録第33号, 57-61.
- 5) Eun Kyoung Hwang, Chang Hoon Kim and Chul Hyun Sohn, 1994: Callus-like Formation and Differentiation in *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura, *The Korean Journal of Phycology*, 9 (1), 77-88.