

## IV 新品種作出技術開発事業 ヒロメの組織培養方法の検討

木村 創

### 目 的

ヒロメの品種改良を目的に1974年にヒロメとワカメの交配種等の養殖試験が行われた。その結果、交配種は形態的には両種の間中型となり、味はヒロメよりも劣るとされた<sup>1)</sup>。また、当场では選抜育種による促成栽培も試みているが、品種が固定されるまでには至っていない。

本報ではクローン個体を再生することによって品種の固定が短期間で可能とされている組織培養方法を検討した。すなわち、ヒロメ藻体の一部組織からカルス細胞へ分化させ、カルス細胞からクローン個体を再生する方法を試みた。

### 材料及び方法

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髄組織を常法により<sup>2)</sup> ASP<sub>12</sub>NTA寒天培地(寒天1.2%)で培養した。培養温度は15℃、20℃の2段階、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、カルス細胞をマイクロナイザーを用いて細断し、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、20℃、3,000Luxの条件下で培養した。培養当初、培地を1ヶ月に1回の割合で交換した。以後、1週間に1回、顕微鏡観察を行いカルス細胞の増殖状況を観察した。カルス細胞から再生が認められず、カルス細胞のみの増殖が認められた場合は再びマイクロナイザーで細断

し、ASP<sub>12</sub>NTA液体培地を用いて再度マルチウェルプレートで培養を開始した。培養条件は以前とは変えて22℃、5,000Lux、12明:12暗、換水は1週間に1回とし、再生状況を観察した。

### 結果及び考察

組織培養の経過を図1に示す。カルス細胞は茎の髄組織培養約5ヶ月後の9月7日に組織先端部に黒褐色の綿毛状の細胞として観察された(A)。ヒロメのカルス細胞は10×20μの方形細胞、もしくは径15μの円形細胞が数珠状に並んでおり(B)、他のコンブ目植物(アラメ・カジメ・クロメ・ワカメ)で観察されるものとほぼ同じであった。<sup>2) 3)</sup>カルス細胞の出現率は10%と低かった。しかし、成熟葉に近い茎部の組織ではやや高かった。また、培養温度の差によるカルス細胞の出現率には差は認められなかった。

カルス細胞をPESI液体培地で培養した結果、培養2日後から細胞増殖が認められ、培養1ヶ月後には雌性配偶体様(C)、雄性配偶体様(D)の細胞塊となったが、葉体への分化はおこらなかった。そこで培地としてASP<sub>12</sub>-NATを用い、培養温度を22℃と高くするとともに、照度を5,000Luxと明るくし、換水を頻繁に行ったところ、培養3週間後には細胞の肥大が始まり(E)、4週間後には芽胞体が観察された(F)。同一のホール内には雄性配偶体に似た細胞も観察されているが、成熟も精子放出も認められていないことから、観察された芽胞体はカルス細胞から単為発生したものと推察された。

筆者はヒロメのプロトプラストからの再生を試み

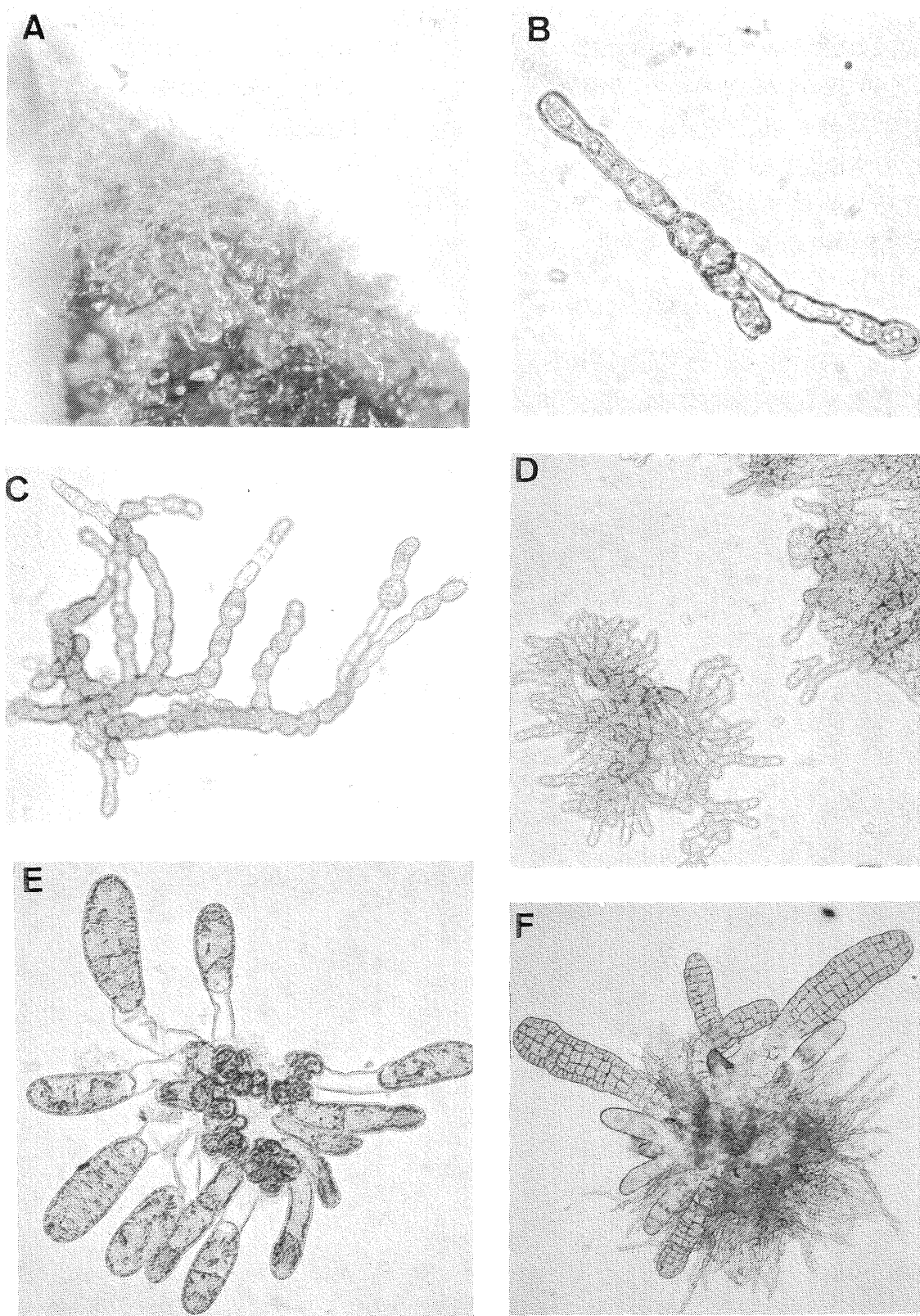


図 1. ヒロメの茎の髓組織を用いた組織培養経過.

- (A) 茎の髓組織先端部から出現したカルス細胞.
- (B) カルス細胞の拡大図 (×400).
- (C) 雌性配偶体様に増殖したカルス細胞 (×200).
- (D) 雄性配偶体様に増殖したカルス細胞 (×200).
- (E) 培地変更後に認められた雌性配偶体様細胞の肥大 (×200).
- (F) カルス細胞から再生した芽胞体 (×100).

た結果, 細胞膜の再生や細胞増殖は認めしたが, 芽胞体の発生は認められなかった<sup>4)</sup>. 今回, カルス細胞を用いて培地を人工海水培地 (ASP<sub>12</sub>NTA) とし, 照度と培養温度を高くするとともに, 換水を頻繁に行うことによって芽胞体が出現したことから, 今後組織培養を用いた品種改良の可能性が考えられた.

### 文 献

- 1) 清水昭治, 西山保, 中本良吉, 1975 : ヒロメとワカメの交配種養殖試験, 本誌, 7, 58-68.
- 2) 木村 創, 1989 : カジメ・アラメ・クロメからのカスル細胞作出条件の検討, 本誌, 21, 15-18.
- 3) Masahiro Notoya, Yshou Aruga, 1992 : Tissue culture of *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Laminariales, Phaeophyta, Jap. J. Phycol., 40, 393-395.
- 4) 木村 創, 1988 : アナアオサ・ヒトエグサ・ヒロメからのプロトプラストの分離と培養, 本誌, 20, 9-14.