

カジメ・アラメ・クロメからのカルス細胞の 作出方法の検討*

木 村 創

褐藻類からのカルス細胞の作出は Saga ら¹⁾ や Lawlor ら²⁾ によって実施されている。Saga らはミツイシコンブの茎組織をコルクボーラーで打ち抜きこれを ASP 12-NTA 培地 (以下 ASP 培地) で培養することにより、カルス細胞を得ている。Lawlor らはカジメ・クロメと同じ仲間の *Ecklonia sadiava* の茎から同様の方法でカルス細胞を作出している。しかし、カジメ・アラメ・クロメなどは茎を打ち抜き各種培地で培養を試みたが、カルス細胞の形成は認められなかった。

本報では今回コルクボーラーで打ち抜いた茎の髓組織や成長点付近の細胞を扇型にカットすることにより、カルス細胞の作出が可能となったのでこのことについて報告する。

材 料 お よ び 方 法

材 料 : アラメ・カジメは御坊市祓井戸地先で、クロメは南部町地先で採取したものを試験に用いた。これらの採取した海藻は、2日間当場の流水水槽においた後、根と葉を切り落とし茎と成長点付近の柄の部分だけとした。茎は長さ2cm位にカットし、柄は茎から切り放し、濾過海水でよく洗浄した後試験に供した。

培養方法 : 茎は Saga らの方法と同じようにコルクボーラーで無菌的に髓組織を打ち抜きこれを1~1.5mmずつカットした。カットした円形の髓組織を扇型に6ないし8つに細かくカットし、この組織片をとがった部分を上向きにし、寒天培地で培養した。成長点付近の柄も同じようにコルクボーラーで無菌的に打ち抜き、表皮の部分を取り除いた後、茎と同様扇型に細かく裁断し、とがった部分を上向きにして寒天培地で培養した。以上の操作手順を図1に示す。組織片の培養培地には ASP・SW-II・PES・PESI・海水のみの各寒天培地を用いた。これらの組織片培養は20°Cと25°Cの2系列で実施し、光量は3,000 Lux, 12時間照射の1系列とした。

結 果

高率ではないものの培養1ヶ月後にカジメは海水培地やPESI培地で、アラメはASPやSW-II培地で、クロメはASPや海水培地でカルス細胞が観察された。

カジメのカルスは頂端部分に綿毛のように増殖していることが多く、このようなカルスの増殖は Lawlor らによっても報告されており、彼女らはこれをカルスと認めている (Plate 1)。このカル

* 新品種作出技術開発研究費による。

ス細胞は細長く中身の抜けていることが多く、クローン個体を得ることは困難と考えられた。(Plate 2)。

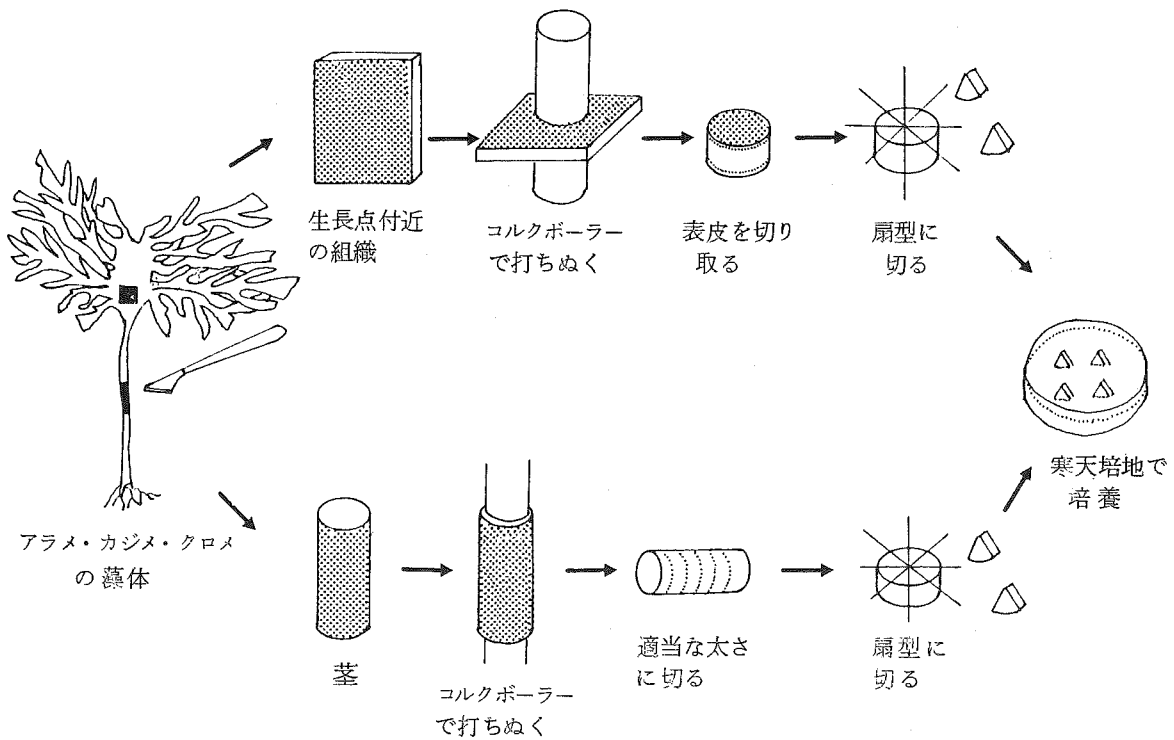


図1 カルス細胞作出のための手法



Plate 1

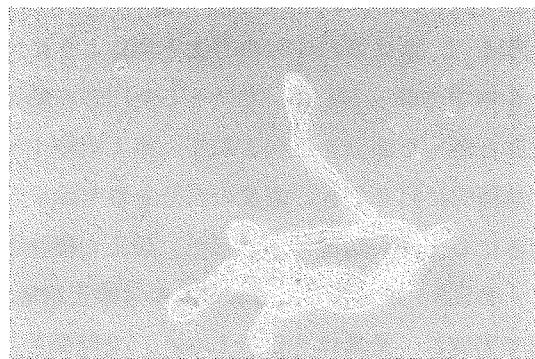


Plate 2

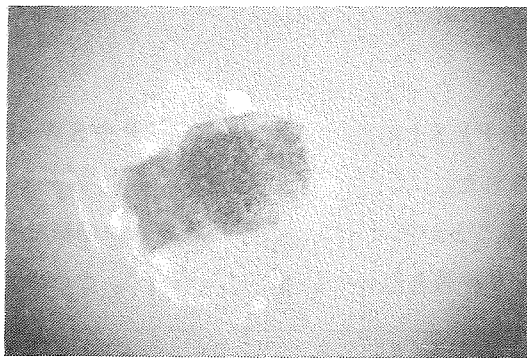


Plate 3



Plate 4

アラメのカルスは細胞塊となったものとカジメのカルスのように綿毛状になっている2種類が観察された。(Plate 3, 4)。綿毛状のカルス細胞はカジメのカルス細胞と同じように細長く内容物のないものが観察された。塊状カルスの形状は綿毛状カルスと変わりなかったが、細胞内には内容物が多く観察された。(Plate 5)。

クロメのカルスはアラメとカジメの間隔的な形状で、細胞塊がそれぞれの綿毛を形成している。(Plate 6, 7)。クロメのカルス細胞はSagaら³⁾がクローン個体の作出に成功したミツイシコンブのカルス細胞と最も似ており、クローン個体の作出も可能と考えられた(Plate 8)。

成長点付近の組織片と茎の髄組織では、成長点付近の組織片の方がカルスを作成しやすかった。また、カルス細胞を作成する至適温度はカジメ・アラメでは20°C、クロメでは25°Cとなり各藻類の生息水温と一致していると考えられる。これらの作出されたカルス細胞は組織片培養2ヶ月後まではある程度増殖を示したが、以後増殖が認められなくなった。

今後、これらのカルス細胞の効率的な作出方法・増殖方法を検討すると共に、クローン個体の作出を試みる必要がある。

文 献

- 1) N. Saga and Y. Sakai, 1983 : Axenic tissue culture and callus formation of the marine brown alga *Laminaria angustata*, *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 49(10), 1561-1563.

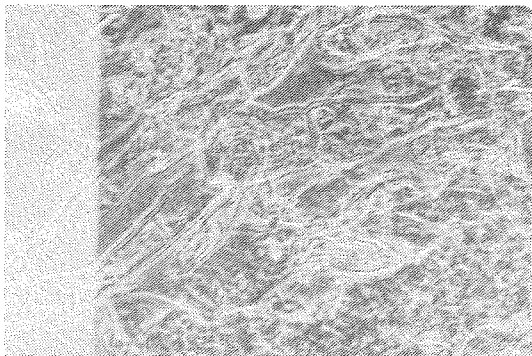


Plate 5

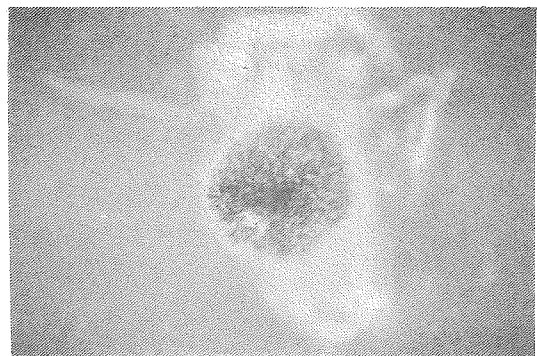


Plate 6

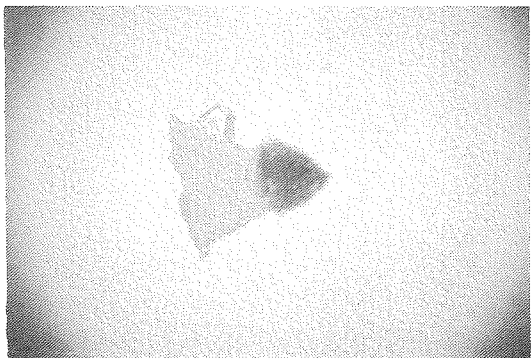


Plate 7



Plate 8

- 2) H. J. Lawlor, J. A. McComb and M. A. Borowitzka : The development of filamentous and callus-like growth in axenic tissue culture of *Ecklonia sadiava*. ALGAL BIOTECHNOLOGY. 1983. ELSEVIER APPLIED SCIENCE. 139-150.
- 3) N. Saga, T. Uchida and Y. Sakai, 1978 : Clone Laminaria from single isolated cell. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 44(1), 87.

Plate の説明

- Plate 1. カジメの成長点付近の組織から形成されたカルス細胞。
20°C PBI 寒天培地
- Plate 2. カジメのカルス細胞。 × 200
- Plate 3. アラメの成長点付近の組織から形成された綿毛状のカルス細胞。
20°C ASP 寒天培地。
- Plate 4. アラメの茎の髄組織から形成された塊状カルス細胞。
20°C ASP 寒天培地
- Plate 5. アラメの塊状カルス細胞。 × 400
- Plate 6. クロメの成長点付近の組織から形成されたカルス細胞(上から撮影)。
25°C ASP 寒天培地
- Plate 7. クロメの成長点付近から形成されたカルス細胞(横から撮影)。
- Plate 8. クロメのカルス細胞。 × 200