

令和元年5月15日現在

機関番号：82708

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K14976

研究課題名（和文）有用ホンダワラ類の不定胚形成機構の解明 新たな海藻産業の創出をめざして -

研究課題名（英文）Elucidation of formation mechanism of adventitious embryos in Sargassaceous plants (Fucales, Phaeophyta) for new seaweed industry creation

研究代表者

吉田 吾郎 (Yoshida, Goro)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・瀬戸内海区水産研究所・グループ長

研究者番号：40371968

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,500,000円

研究成果の概要（和文）：有用海藻ホンダワラ類において培養下の特異現象として観察される成長途上の藻体（初期葉）上での不定胚形成について、その誘導条件とメカニズムを解明した。モデル種であるヒイラギモク *Sargassum ilicifolium* では、水温により形態形成・成熟等の生活環上のイベントが制御されており、高温（24℃以上）で幼体を培養することにより通常の状態形成（主枝形成）が妨げられ、高い確率で不定胚形成を誘導できた。組織学的な観察では、不定胚は初期葉の髄層細胞に由来していた。不定胚由来の個体も正常の発生能力を有するのみならず、さらなる不定胚の拡大再生産も可能であり、新たな種苗生産技術として応用が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ホンダワラ類はヒジキやアカモク等の産業重要種を多数含み、増養殖の対象となっている。しかし、その種苗の確保は成熟期の有性生殖による配偶子の採取によっており、季節的な制約や労力が産業規模での展開の制約になっている。一方、本研究で提案した不定胚誘導とそれによる種苗生産は、室内の環境制御下で行うため、季節の限定が無いこと、3次元での生産が可能で水槽等の大規模施設は不要なこと等、従来法に比較し大きな利点があり、今後のホンダワラ類の産業利用を大幅に進展させうる可能性がある。また藻類学上においても、個体発生や形態形成、生活環の進行等の生物学的機構を解明するための重要な基礎的知見であると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have elucidated the induction conditions and mechanism of adventitious embryo formation on thalli of Sargassaceous plants (Fucales, Phaeophyta), which is observed as a specific phenomenon under culture. In *Sargassum ilicifolium*, a model species in this study, life cycle events such as morphogenesis and maturation were controlled by water temperature. Normal morphogenesis (main branch formation) of cultured juveniles were restrained at high temperature (24℃ or higher) and formation of adventitious embryos was induced on those restrained juveniles with high probability. Histological observation revealed that adventitious embryos are originated from the medullary layer cells of the leaves of the juveniles. Thalli derived from adventitious embryos have normal developmental potential and can be used as seedlings. Further, they also have a potential to produce adventitious embryos in a short period of time, which can be effective and useful for seedling production at industrial scale.

研究分野：藻類学

キーワード：ホンダワラ類 増養殖 不定胚 室内培養 種苗生産 形態形成 生活環

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

大型褐藻のホンダワラ類(ヒバマタ目)は、'藻場'を形成することにより沿岸生態系において極めて重要な機能を担っている。その一方で、我が国においてはヒジキやアカモク等が食用とされ、近年その需要が急速に増加している(伊藤ら 2000)。また、アルギン酸等の化学工業、薬品、肥料等の原料として世界的にも極めて重要な資源である(大野 2004)。このような資源としてのホンダワラ類の利用を進めるにあたっては、ホンダワラ類が生態系で担う役割に対する配慮が必要である。天然資源への多大な依存を回避するために、大規模養殖システムを確立し、安定的・持続的な生産をはかることもその方法のひとつである。

大規模養殖のためには、健全な種苗を安定的に供給することが必要となる。ホンダワラ類には、付着器(陸上植物の根にあたる)からの無性(栄養)繁殖を行う種もあるが、全ての種類が有性生殖、すなわち、成熟期に形成される卵と精子の受精を経て、親藻から放出される幼胚により繁殖を行っている。これまで試みられてきたホンダワラ類の養殖においても、その種苗の確保は幼胚の採取・育成によってきた場合がほとんどである。しかし、ホンダワラ類の成熟期は1年のある季節(日本では主に春季の数ヶ月)に限られ、幼胚採取が可能な期間が限定される上に、幼胚由来の種苗の管理・育成には多大な労力と様々な技術的困難が伴う。この種苗生産における隘路によって、我が国ではホンダワラ類の産業ベースの養殖は未だ成立していない。

2. 研究の目的

代表者はホンダワラ類の生理生態的特性の研究に関わった過程で、培養中の複数種の初期葉(幼胚の発芽後、初期段階で形成される葉)の表面から多数の新たな幼芽が発出するのを観察した。この幼芽は容易にもとの初期葉から離脱して基質に着生し、通常の間接発生過程を経て1年後に成熟藻体まで成長した(Yoshida et al. 1999, 2001)。この現象は、初期葉の組織を構成するものとして分化した細胞が、何らかの要因により脱分化(既に分化した細胞が、未分化の状態に変化すること)を起こし、「不定胚」(植物の体細胞や組織に由来し、受精胚と同様の発生・成長能を有する細胞塊)に転換して発生を開始し、独立した個体に成長したものと考えられた。不定胚の形成は、ニンジンをはじめとして多くの陸上植物で知られているが、褐藻類の1大グループであるホンダワラ類の仲間においては世界で初めての発見であった。不定胚形成は培養下で一定の割合で「偶然に」観察される現象に過ぎなかったが、不定胚の形成を人為的に制御することができれば、天然の幼胚に依存したホンダワラ類の種苗生産が抱える隘路を突破できる可能性がある。したがって、本研究では有用ホンダワラ類を対象として、不定胚形成を誘導する条件の解明と、不定胚形成機構の組織学的解明等、産業への応用に向けた基礎的知見を累積することを目的とした。

3. 研究の方法

- 1) 複数のホンダワラ類の幼胚を採集し、複数の条件下で培養・観察を行い、不定胚形成を起こしやすい種や、その培養条件を明らかにする。
- 2) 不定胚形成を起こした藻体の組織を観察し、不定胚形成がどの部位(組織)で起こっているのか、組織学的機構を明らかにする。
- 3) 不定胚由来の藻体を育成し、正常な発生を行うかどうか確認するとともに、さらに不定胚を形成する能力(拡大再生産)があるか確認する。
- 4) 3)の結果から、不定胚を活用した場合の種苗生産の期間や生産量を試算し、産業レベルで必要とされる種苗生産規模と比較して、その応用への可能性を評価する。

4. 研究成果

1) 食用種のヒジキ *Sargassum fusiforme*、日本の主要藻場構成種のヤツマタモク *S. patans*、熱帯域に主要な分布域を持つヒイラギモク *S. ilicifolium* の幼胚を採取して培養し、初期葉上での不定胚形成の有無を確認した。不定胚はヒジキ、ヤツマタモクでは形成されず、ヒイラギモクでは一定の培養条件下で極めて高い確率で観察された。すなわちヒイラギモク幼胚を温度 24℃、光量子量 100 μmol m⁻² s⁻¹、光周期 12hL-12hD、通気条件下で培養し、数枚の初期葉を形成させた後、温度条件のみ 18℃ に変えると藻体は初期葉の代わりに主枝の形成を開始し、親と同様の形態に成長した。一方、24℃ で培養を継続すると初期葉の連続的な形成が続いて主枝は形成されず、やがて藻体は成長の極性を失うとともに初期葉表面から多数の不定芽が発出した。この現象は宮崎県産、高知県産のヒイラギモクでみられ、同種は不定胚の形成が容易に誘導される特性を有していると考えられた。

2) ヒイラギモクの初期葉を細断し、上記の条件で培養したところ、2週間以内に各断片から不定芽の発出がみられた。不定芽は全て葉断片の断面部、すなわち髄層細胞から発出していた。初期葉の薄片を作成し、上記の培養条件下で断面部の表層細胞、髄層細胞の経時変化を観察したところ、やはり2週間程度で透明であった髄層細胞部が着色し、不明瞭であった髄層細胞内のオルガネラが明瞭に観察されるようになったとともに、細胞分裂を開始し、葉断面部から細胞塊が盛り上がっていく様子が観察された。

3) 発出した不定芽を母体である葉から剥離し、温度 24℃、光量子量 100 μmol m⁻² s⁻¹、光周期 12hL-12hD で培養したところ、3日後には仮根が形成され、培養容器に固着した。培養

を継続し、数枚の初期葉が形成された後温度条件を 18 に変えると、藻体はやがて主枝を形成し通常の形態形成・成長過程を示した。一方、24 のまま培養を継続すると、初期葉から再び多数の不定芽が発出し、不定胚由来の個体からさらに不定胚を生産する‘拡大再生産’が可能であることが示された。

4) 上記の拡大再生産能を活用し、不定胚を活用した種苗生産の実用性について試算を行った(ヒイラギモクをモデルとして)。幼胚から育成した幼体からは、(幼胚)採取後4カ月で不定芽の発出がみられ、その数は幼体1個体(葉面積2~3cm²)につき100個と見積もられた。さらにこの不定芽由来の個体を2カ月半培養すると、次代の不定芽の発出が同程度みられるので、理論上はおよそ半年で100万個体の種苗を得ることが可能と試算された。これは未だ試験レベルのヒジキの種苗生産において、年間の生産量として目標とされている規模である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yoshida, G. & Shimabukuro, H. 2017. Seasonal population dynamics of *Sargassum fusiforme* (Fueales, Phaeophyta), Suo-Oshima Is., Seto Inland Sea, Japan—development processes of a stand characterized by high density and productivity. *J. Appl. Phycol.* **29**: 639-648.

〔学会発表〕(計 1 件)

吉田吾郎・島袋寛盛・持田和彦. 室内培養下におけるヒイラギモクの不定胚形成過程の観察. 日本藻類学会第43回京都大会, 2019年3月, 京都市.

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年:
国内外の別:

取得状況(計 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2)研究協力者

研究協力者氏名：持田和彦，島袋寛盛

ローマ字氏名：Kazuhiko Mochida, Hiromori Shimabukuro

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。