

地衣類の組織培養

山本好和*

1. はじめに

地衣類は、菌類と藻類とから成る複合生物である。菌類は、藻類にすみかと水を与え、藻類は、光合成によって得た炭水化物を菌類に与える共生関係を保っている。地衣類を構成する菌類は地衣菌と呼ばれ、カビやキノコと同じ真菌類に属している。藻類は共生藻と呼ばれ、現在までに知られているものは、緑藻類、黄藻類、藍藻類であるが、種のレベルまで明かになっている例は少ない。その共生の程度にはいくつかの段階があるが、最も高度に進化した地衣類では、皮層、藻類層、髓層、偽根などのように組織分化した構造を有している。通常見受けられるほとんどの地衣類は、年間数 mm 以下の生育速度を示すのみである¹⁾。しかも、大気汚染の影響を受けやすいために、また森林伐採による乾燥化のために、種の存続の危機にさらされている。従って、地衣類を遺伝子源として確保するための培養保存が急務となっている。

2. 地衣類の組織培養

地衣類の培養方法は、構成する菌類、藻類それぞれを単離して培養する方法²⁾と、菌類と藻類を混合した状態で培養する方法とに分けることができる。前者の培養方法は 1950 年代ごろに確立し、現在までに多くの種類から地衣菌あるいは共生藻が単離され、培養保存されている。しかし、この方法は、胞子をつける種類の地衣類にしか適用できないという欠点を有していた。

電子顕微鏡で観察すると、地衣体における地衣菌の菌糸と共生藻の細胞の間には、共生の程度に従って接触方法の進化が見られる³⁾。接触菌糸は、吸根と呼ばれ地衣菌と共生藻の間の物質移動を担っている。高度に進化した地衣類では、吸根は藻細胞の表面を認識しつつ接触していると考えられる。筆者らは、地衣類を培養する場合、このような地衣菌糸と藻細胞間の細胞認識を維持させることが大切であると考えて、菌と藻の混合した状態で培養する方法 (Fig. 1) を開発した⁴⁾。

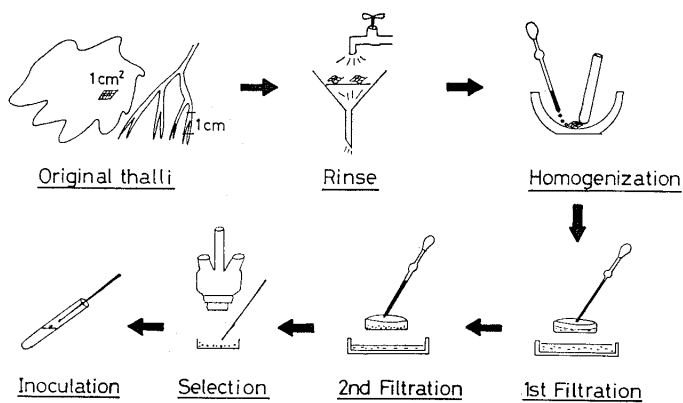
地衣菌と共生藻から成る微小片は、植え付けてから約 1 カ月で増殖が肉眼で認められるようになる。得られた増殖組織は、菌と藻から成る微小片を用いた場合、菌と藻から構成されることが、顕微鏡で確認されている⁵⁾。この方法は、胞子をつけるのが難しい地衣類にまで適用できるうえ、地衣体の各部位、たとえば、頭状体や子器など特殊化した組織に由来する増殖組織を別個に得る可能性を持っている。この地衣体由来の培養組織も、特定の培養条件を設定することによって、元の地衣体を再分化することが確かめられている⁶⁾。

地衣類の標準的な培養条件を Table 1 に示した。今までに培養されている地衣増殖組織は約 50 種類であるが、この条件で培養できた地衣類には限界があって、サルオガセ科、ウメノキゴケ科など緑藻を共生藻とする地衣類からの培養に成功したが、カブトゴケ科、ツメゴケ科など藍藻を共生藻とする地衣類では成功していない。このことは、藍藻共生地衣類に特有の未知の培養条件があるためと思われる。

地衣類の培養温度は、20℃ が標準の培養温度であるが、種固有の生息温度域により、その増殖できる温度域が決定される。亜熱帯に生息する地衣類の増殖組織は、25℃ 以上の高温温度域で増殖が可能であるが、一方、高山帯に生息する地衣類の増殖組織は、15℃ 以下の低温温度域でしか増殖できない⁷⁾。

共生藻が光合成によって貯蔵する炭水化物はマンニトールであり、さらに共生藻から地衣類に移動する炭水化物は、おもに糖アルコール、共生藻が緑藻の場合は、アドニトールであることが放射性同位体を用いた実験から明かにされている⁷⁾。糖源の培養組織に及ぼす影響については、グルコースと同様にマンニトールやリビトール、シュクロース、ソルビトールも培養組織を増殖させることができる。アミノ酸の培養組織の増殖に及ぼす影響は、糖源ほど顕著ではない。しかし、D-アスパラギンが培養組織を増殖させることができることは興味深い⁵⁾。また、植物ホルモンやビタミンなどの微量有機物を培地へ添加しても増殖を促進させることができない。このことは、未知の増殖ホルモンが存在する可能性を示している⁵⁾。

* Yoshikazu YAMAMOTO: Tissue Culture of Lichens.
日本ペイント(株)技術センター (〒572 寝屋川市池田中
町 19-17)
Technical Center, Nippon Paint Co., Ltd (Ikeda-
nakamachi, Neyagawa, 572)



Isolation Method of Cultured Lichen Tissues

Fig. 1

Table 1. Culture conditions.

Media	• Lilly-Barnett medium			
	Glucose	10 g	Asparagine	2 g
	KH ₂ PO ₄	1 g	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5 g
	Fe(NO ₃) ₃ ·9 H ₂ O	0.2 mg	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 mg
	Vitamin B ₁	100 µg	Biotin	5 µg
	• Malt-Yeast Extract medium			
	Malt extract	20 g	Yeast extract	2 g
Temperature	20°C			
Light	0 (lux)			

地衣類の培養組織の増殖速度は、藻類の共存による増殖促進効果のためか、液体培地では3週間で約4倍と、高等植物の培養細胞と同等の増殖能力を示す。もちろん天然の地衣類の生育速度と比べると、数万～数億倍も速い。また地衣菌単独の増殖速度に比べても格段に速い。従来、地衣類の生育速度が非常に遅いので、工業的利用の価値がないといわれてきたが、この増殖速度は工業的な規模の培養や実験室レベルでの研究に十分に適するほどの速度である。

3. 地衣類の組織培養による物質生産

地衣類は、世界各地で民間伝承薬、染料や香料の原料として利用されている貴重な資源である。しかし、その成分の化学的構造は、古くから研究が進められたにもかかわらず、朝比奈・柴田⁸⁾がまとめた低分子量成分や、最近注目された抗ガン性多糖類⁹⁾以外、ほとんど不明である。これらの地衣成分は、地衣化しない菌類の成分やまた植物の成分とも異なる特殊な一部門を形成している。

地衣菌のみを培養した場合、生産されるものの多くはアントラキノン類である¹⁰⁻¹²⁾。一方、地衣菌と共生藻が

共存している組織では、菌と藻の結び付きの程度によって、生産される物質が変化する¹³⁾。*Cladonia cristatella*の培養組織では、菌と藻の会合ができた状態でバルバチン酸が生産され、さらに形ができた状態で、ジジム酸が合成されて天然の地衣体と同じ成分を有するようになる。また、*C. cristatella*の共生藻のかわりに、別の種類の地衣から分離した共生藻を用いても同じ結果が得られた。このことは、地衣成分が、共生藻の種類にかかわらず地衣菌により生産されることを示している。しかし、*C. cristatella*の地衣菌のみの培養では、どんなに培養条件をかえてもバルバチン酸が生産されなかった。筆者らが培養した *Usnea rubescens* 培養組織、*Ramalina vasudae* 培養組織の場合はウスニン酸¹⁴⁾が、また、*U. flexilis*の培養組織はプロトセトラール酸¹⁴⁾が、同じく *Ramalina* 属の1種の培養組織と *Usnea* 属の1種の培養組織はサラチン酸¹⁴⁾がそれぞれ生産された。ウスニン酸は菌のみの培養では生産されないし、また藻の割合が多くなるとウスニン酸の含量が低くなり、藻のみの培養でもウスニン酸は生産されなかった。以上のことは、地衣類特有の成分は、地衣菌と共生藻の共存によって初

めて生産されることを示唆している。

4. おわりに

地衣類の培養は、始まったばかりである。その培養組織の増殖は、天然の地衣体に比べて格段に速く、工業的な物質生産に耐えるほどである。しかし、地衣類の培養生産物についてはほとんど解明されておらず、今後の研究課題である。また、地衣類の遺伝学、生理学、組織学的な解明も残された課題であるが、これらについては、組織培養、あるいは細胞工学や遺伝子工学の手法を用いて、今後研究が進められるだろう。

(1988年1月13日受理)

文 献

- 1) Hale, M. E., 1973. In "The Lichens" (ed. by Ahmadjian, V., M. E. Hale), p. 473-492, Academic Press, New York.
- 2) Ahmadjian, V., 1973. In "The Lichens" (ed. by Ahmadjian, V., M. E. Hale), p. 653-659, Academic Press, New York.
- 3) Honegger, R., 1985. In "Lichen Physiology and Cell Biology" (ed. by Brown, D. H.), p. 287-302, Plenum Press, New York.
- 4) Yamamoto, Y., R. Mizuguchi, Y. Yamada, 1985. Agric. Biol. Chem., **49**: 3347-3348.
- 5) Yamamoto, Y., R. Mizuguchi, S. Takayama, Y. Yamada, 1987. Plant Cell Physiol., **28**: 1421-1426.
- 6) 吉村庸, 私信.
- 7) Smith, D. C., 1973. In "The Lichen Symbiosis", Oxford University Press, Oxford.
- 8) 朝比奈泰彦, 柴田承二, 1949. 地衣成分の化学, 河出書房, 東京.
- 9) Shibata, S., Y. Nishikawa, M. Tanaka, F. Fukuoka, M. Nakanishi, 1968. Zeit. Krebsforsch., **71**: 102-104.
- 10) Castle, H., F. Kubsch, 1949. Arch. Biochem., **23**: 158-160.
- 11) Nakano, H., T. Komiya, S. Shibata, 1972. Phytochemistry, **11**: 3505-3508.
- 12) Ejiri, H., U. Sankawa, S. Shibata, 1975. Phytochemistry, **14**: 277-279.
- 13) Culbertson, C. F., V. Ahmadjian, 1980. Mycologia, **72**: 90-109.
- 14) 山本好和, 吉村 庸, 山田康之, 1985. 日本農芸化学会昭和 60 年度大会講演要旨集, p. 597.