

# 褐藻フシスジモクの組織培養

藤川 義一・桐原 慎二・須川 人志

ホンダワラ類の繁茂する藻場は、ガラモ場と呼ばれており、水温や水流などを安定した水理環境に保持する機能があることから、魚貝類の産卵場、餌場、幼稚魚の保育場として、水産資源上重要な役割を果たしている。このため、ガラモ場の拡大を目的としたホンダワラ類の種苗作出が、アカモク、ウミトラノオ、マメダワラ、ヤツマタモク、オオバモク、ハハキモク、ヨレモクで試みられている(月館 1985)。しかし、ホンダワラ類は、成熟する期間が短く、雌雄異株な種がある上、コンブ目植物に比べ放出される胞子の数が少ないこと、幼胚が初期発生時に珪藻類に覆われ著しく減耗することなどの理由で、藻場造成を目的とした種苗作出は一般に行われていない。

最近、コンブ目植物等で組織培養を用いた非成熟藻体からの種苗作出法が示されている(Notoya et al.)。そこで、青森県日本海沿岸に広範な群落を形成するホンダワラ類のうち褐藻フシスジモク *Sargassum confusum* C. Agardを用いて、組織培養による種苗作出のための培養条件を検討した。

## 材料と方法

材料のフシスジモクには、1993年10月に津軽海峡沿岸の大間町地先水深5 mから採取した全長約30 cmの藻体を用いた。図1に示したNotoyaの方法に従い、主枝、茎、及び、付着器から摘出した約3 mm角の組織片を25 ml培養フラスコ中に移し、温度(5、10、15、20、25、30、35℃)、光量(0、10、20、40、80  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )、光周期(14時間明期:10時間暗期)を組み合わせた計35通りの条件下で、Grund改変培地(Mclachlan 1973)を用いて、8週間無菌状態で静置培養した。この後、葉長約5 mmのシュートを生じた組織片を500 ml枝付きフラスコ内に移して、温度(5、10、15、20、25、30℃)、光量(40  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )、光周期(14時間明期:10時間暗期)を組み合わせた条件下で、6週間通気培養した。また、主軸が約5 mmに生長した組織片については、1994年1月19日に、青森県平内町茂浦地先の試験筏から垂下したクレモナロープの水深1、2、及び、3 mに結着し、生長を観察した。

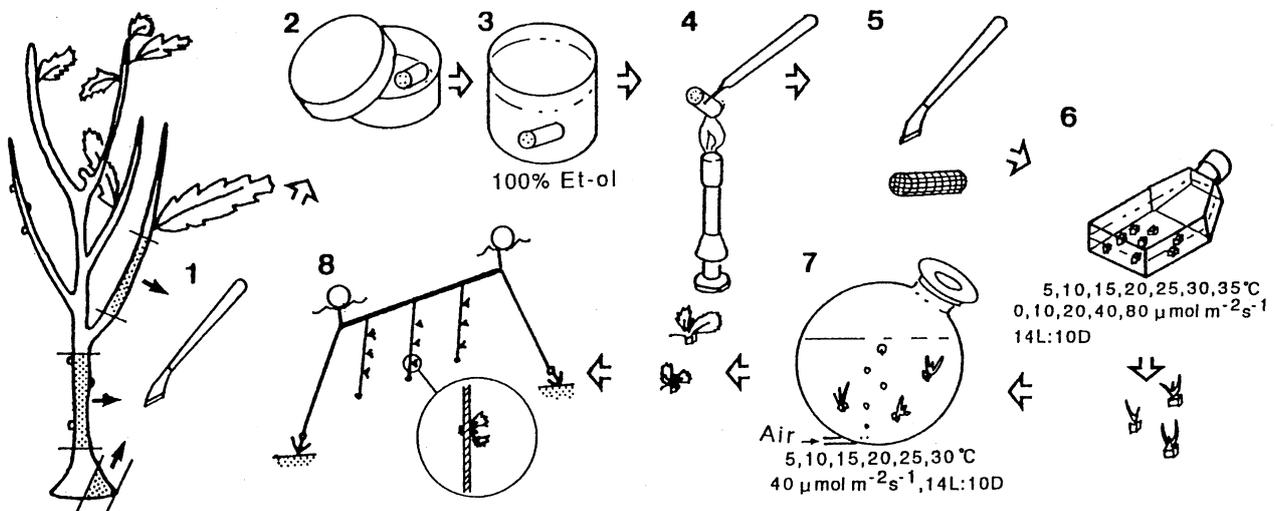


図1 組織培養の手順

1-2: 組織の摘出, 3-4: 組織の滅菌, 5: 組織の細断,  
6: フラスコ中での静置培養, 7: シュートの通気培養, 8: 養成施設への冲出し.

## 結 果

静置培養の下で出現した細胞は、表1に各組織片別に示したとおり、色素体が少なく白色で糸上に伸長する再生細胞、大きな色素体をもつ褐色の球状細胞が塊状に伸長するカルス細胞、組織から直接形成され主軸の伸長を伴うシュート（発芽）の3種類であった。

表1 再生細胞、カルス細胞、シュートの形成条件.

	培養温度 (°C)	主 枝					茎					付着器						
		光 量 ( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )																
		0	10	20	40	80	0	10	20	40	80	0	10	20	40	80		
再生細胞	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カルス細胞	5																	
	10									+	+	+						
	15									+	+	+			+	+	+	
	20								+	+	+	+		+	+	+	+	
	25								+	+	+	+						
	30												+					
	35																	
シュート (発芽)	5																	
	10																	
	15								+	+	+	+						
	20												+	+				
	25														+			
	30																	
	35																	

+ : 形成が認められた条件.

再生細胞は主枝、茎、及び、付着器の各組織片から形成が認められ、10℃前後の比較的低温かつ  $0 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  の暗所を含む低光量下で、培養1週間目の早期から形成された。さらに、培養8週間目には組織片の摘出部位や培養温度、光量にかかわらず、すべての培養条件下で形成された。再生細胞の生長は、図2に培養8週間目の茎から発生した細胞の組織片からの高さを示したとおり、10、15℃の温度の低光量条件下で良好であり、10℃、暗所条件下では平均210  $\mu\text{m}$ であった。なお、主枝、付着器の組織片から発生した再生細胞も同様の条件下で良く生長した。再生細胞は、この後の培養を通じてシュート（発葉）、仮根などに分化することはなく、組織片から切り離されたものは、生長することなく枯死した。

カルス細胞は茎、付着器の各組織片から形成が認められ、茎では培養温度10℃～30℃、付着器では15、20℃の光量を有する条件下で形成された。カルス細胞の生長は、図3に培養8週間目の茎から発生した細胞の組織片からの高さを示したとおり、高光量条件下で比較的良好であり、なかでも20℃、 $80 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ の条件下では、高さの平均値が350  $\mu\text{m}$ 、細胞塊の直径が2.8mmの最大値を示した。また、付着器の組織片からのカルス細胞は、同様の条件下でよく生長した。カルス細胞は、この後の培養においても増殖が観察され、さらに、組織片から切り離されたものでも生長が認められた。

シュート（発芽）は、茎の組織片で形成が認められ、培養4週間目に瘤状の突起として観察された。培養

5週間目以降には幼胚から形成されるものと同形の単状で扁平した第1～第3初期葉を形成した。シュート（発芽）は、培養温度15～25℃の光量を有する7通りの条件下で形成され、15℃では光量（ $10\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ）以上で、20℃では $40\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で、25℃では $80\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の条件下で形成された。

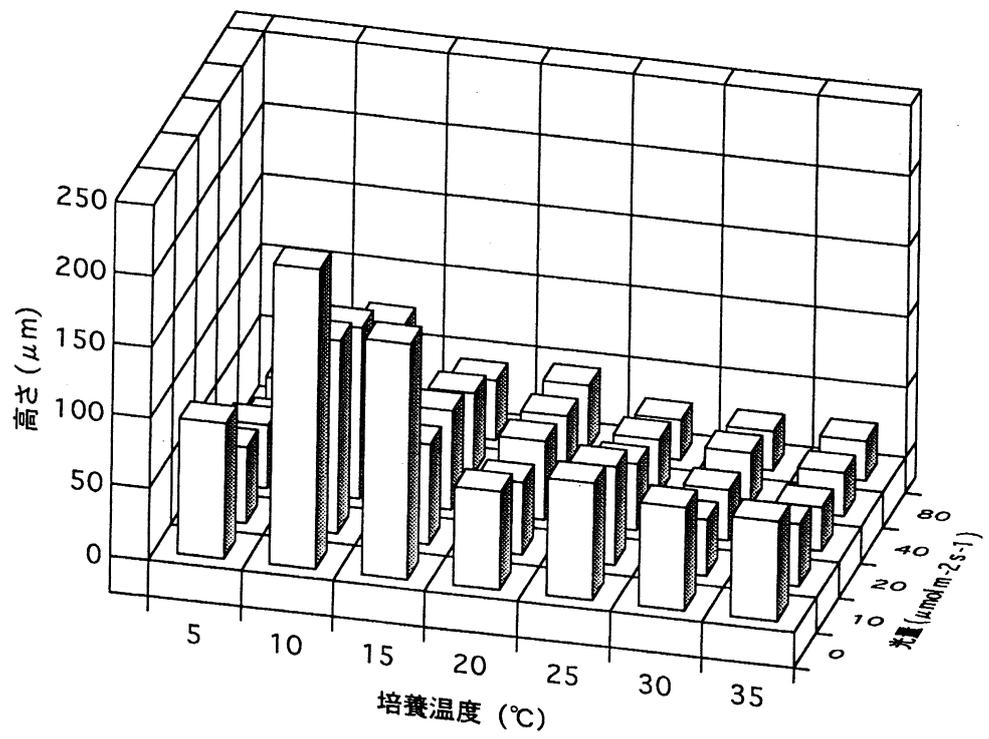


図2 茎から得られた再生細胞の組織片からの高さ。

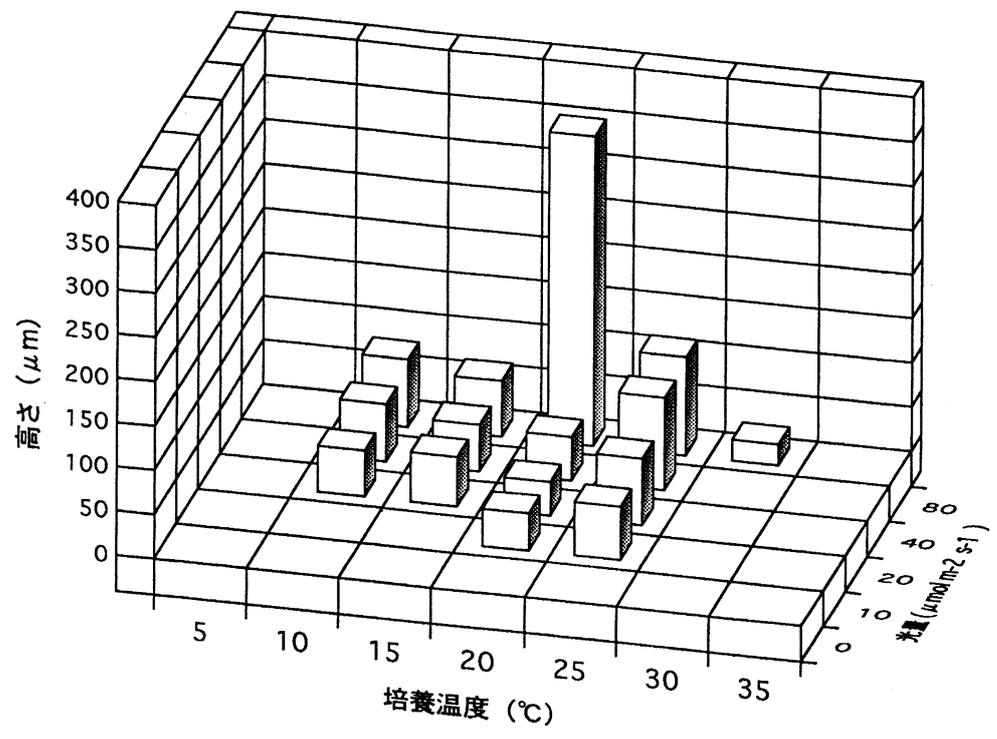


図3 茎から得られたカルス細胞の組織片からの高さ。

シュートの生長は、図4に培養8週間目の第1初期葉の長さを示したとおり、培養温度20℃、光量 ( $80 \mu \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) 条件下で最も良く生長し、葉長が13mmに達した。初期葉は培養温度15、20℃の条件下では2～3葉形成されたが、25℃の条件下では5葉形成された。

枝付きフラスコ中で培養したシュートの最大葉長は、図5に変化を示したとおり、培養温度が25、30、20、15、5℃の順で大きくなった。葉は培養6週間目には大きくなった培養温度の順に9、9、9、8、8、4枚が発生し、低温条件下では生長速度、形成数とも小さい値となった。

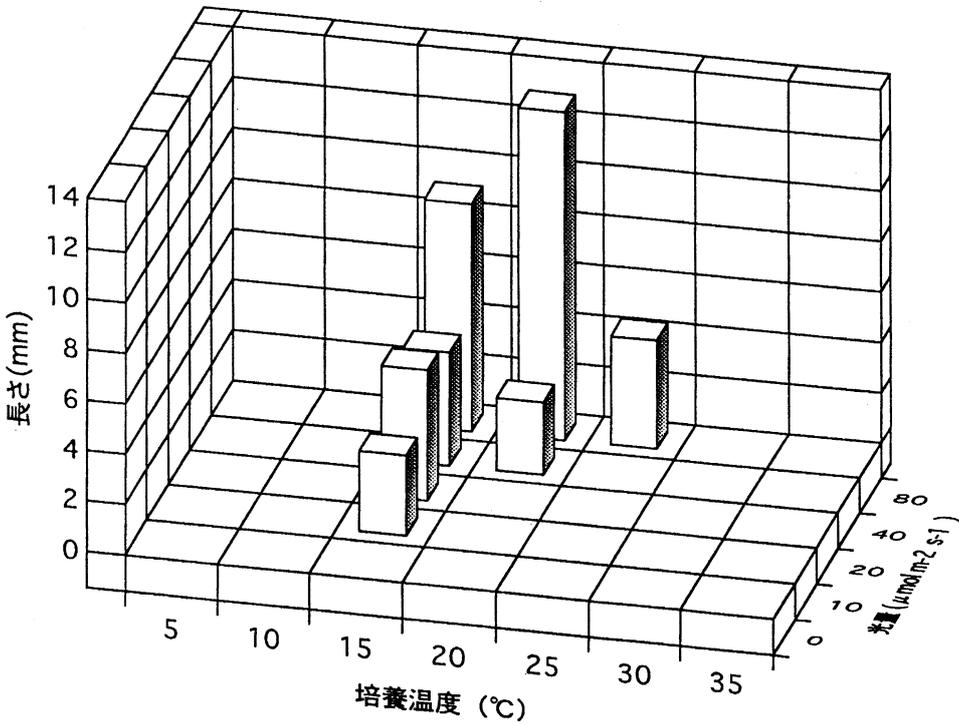


図4 茎から得られたシュートの第1初期葉の長さ。

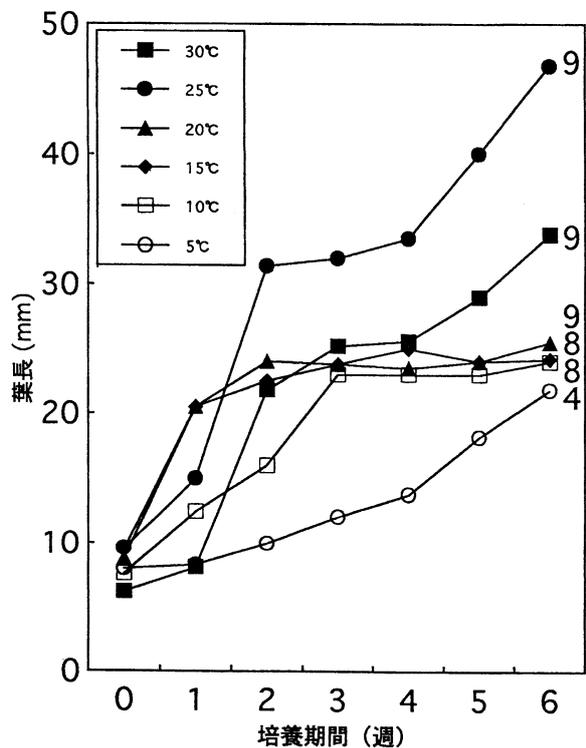


図5 枝付きフラスコ中で培養したシュートの最大葉長の変化。数値は葉数。

天然海域に沖出した種苗の主枝長と葉数は、図6に変化を示したとおり、水深1mに沖出した藻体では、2、8、12週間目には各々第3、第4、第5主枝を新たに形成し、沖出し14週間目には、第1主枝の長さが210mmとなり、31枚の葉を生じた。また、水深2mに沖出した藻体では、2、6週間目に各々第2、第3主枝を新たに形成し、沖出し14週間目には第1主枝の長さが20mmとなり、38枚の葉を生じた。これに対して、水深3mに沖出した藻体では、養成6、8週間目には各々第2、第3主枝を新たに形成したもの、沖出し14週間目には第1主枝の長さが40mmとなり、16枚の葉を生じたものの水深1mには劣った。

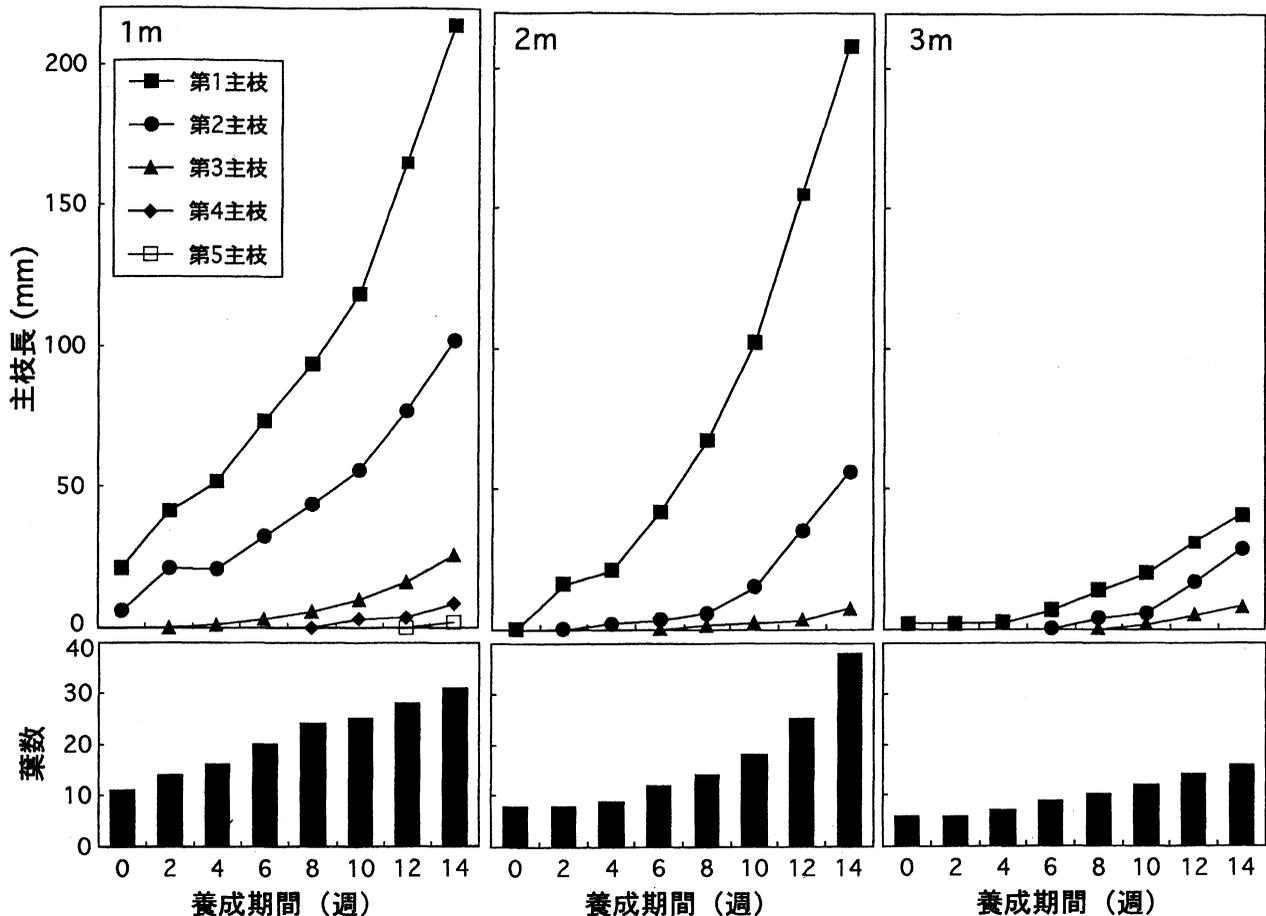


図6 天然海域に沖出した種苗の主枝長(上)と葉数(下)の変化。

## 考 察

褐藻フシスジモクの種苗作出を目的に、組織培養を試みた結果、各組織片からは再生細胞、カルス細胞、シュート(発芽)の3種類の細胞が得られた。このうちシュート(発芽)は、茎の部分から摘出した組織片のうち、培養温度が20℃で、かつ、高光量の条件下で効率的に形成され、さらに通気培養によっても順調に生長することが確かめられた。さらに主枝を伴うシュート(発芽)は、天然海域に沖出した結果、順調に生長し、浅所での生長が良かった。

本実験ではカルス細胞は活発に増殖するものの、シュート(発芽)への分化は認められなかった。Polne-Fuller, M. and GIBOR, A. (1987) はフシスジモクと同じホンダワラ属の *Sargassum muticum* を PESI 培置を用いて培養した結果、得られたカルス細胞からシュートを得ている。

ホンダワラ類藻場の造成には、大量の種苗が必要となることから効率的な種苗生産技術の開発が求めら

れており、今後カルス細胞の増殖条件及び分化条件を検討する予定である。

現在、青森県深浦町地先に設置した海中林造成試験施設に得られたシュートを結着沖出ししており、天然に生育する藻体と比較しながらその生長を観察している。

## 参 考 文 献

月館潤一 (1985) ガラモ場の造成. 海洋科学, 17, 44-49.

Notoya, M., Nagahima, M. and Aruga, Y. (1992) Tissue culture and the developmental conditions of callus from youngsporophytes of *Eisenia bicyclis* (Kellman) Setchell (Laminariales Phaeophyta). Jpn. J. Phycol. , 40, 349-352.

Notoya, M. (1988) Tissue culture from the explant of *Ecklonia stolonifera* Okamura (Laminariales Phaeophyta). Jpn. J. Phycol. , 36, 175-177.

Mclachlan, L. (1973) Growth media—marine. In Handbook of Phycological Methods. ed. Stein, J.R., Cambridge University press, New York, 25-57.

Polne-Fuller, M. and GIBOR, A. (1987) Tissue culture of seaweeds. In Seaweed Cultivation for Renewable Resources. eds. Bird, K. T. and Benthon, P. H. , Elsevier Scientific Publications, Amsterdam, 219-239.