

褐藻フシスジモクの組織培養

藤 川 義 一・桐 原 慎 二

(青森県水産増殖センター)

緒 言

ホンダワラ類はガラモ場の構成種であり、藻場内を水温や流水などの安定した水理的環境にさせることで、魚介類の産卵場、幼稚魚、貝類の保育場や餌場として、水産資源上重要な役割を果たしている(大野 1985)。このため、ガラモ場の拡大を目的としたホンダワラ類の採苗及び沖出し養成が、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、成熟する時期が限られ採苗が短期間に留まること、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、培養期間中に幼胚が珪藻類に覆われ減耗することなどのため、藻場造成を目的とした採苗は一般的に行われていない。

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採苗法が示されている(Notoya *et al.* 1992)。そこで、筆者らは、青森県日本海沿岸で広範な群落を形成するホンダワラ類である褐藻フシスジモク *Sargassum confusum* C. AGARD を用いて、組織培養による採苗条件を検討したので報告する。

材料と方法

材料のフシスジモクは、1993年10月に津軽海峡沿岸の大間地先水深 5 m から採取した全長約 30 cm の藻体とした。主枝、茎、及び、付着器から、図 1 に示した Notoya (1988) の方法に従い摘出した約 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,

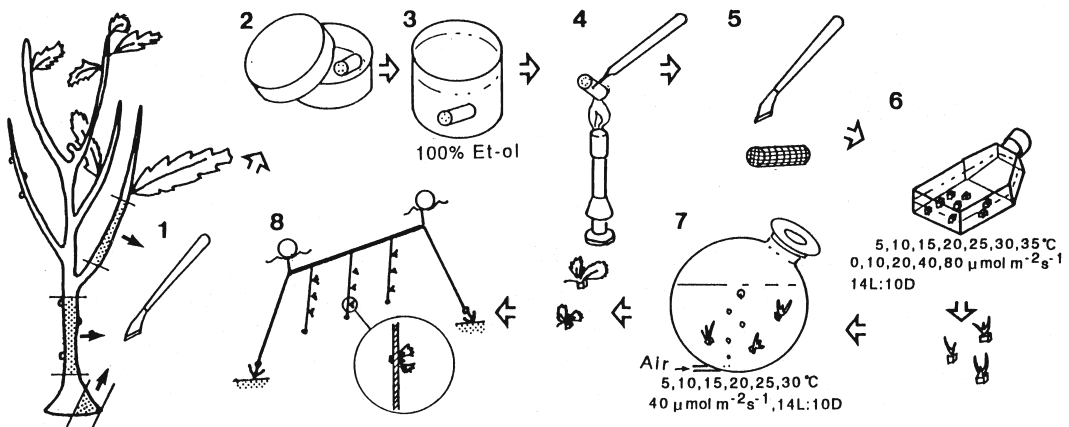


図 1 1-2: 組織の摘出, 3-4: 組織の滅菌, 5: 組織の細断, 6: フラスコ中での静置培養, 7: シュートの通気培養, 8: 養成施設への沖出し。

40, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 光周期(14L : 10D)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週間無菌的に静置培養した. この後, 全長1mm, 葉長5mmのシュートを生じた組織片を500ml枝付きフラスコ内に移して, 温度(5, 10, 15, 20, 25, 30 $^{\circ}\text{C}$), 光量(40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$), 光周期間(14L : 10D)を組み合わせた条件下で, 6週間通気培養した. 主枝の長さが約5cm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に垂下したクレモナロープの, 水深1, 2, 3mに結着, 冲出した.

結果の概要

培養フラスコ中では, 色素体が少なく白色で糸状に伸長する再生細胞, 大きな色素体を持つ褐色の球状細胞が塊状に生長するカルス細胞, 組織から直接形成され主枝の生長を伴うシュートの3種類の細胞が観察された.

再生細胞は, 表1に示したとおり, 茎, 主枝, 付着器の各組織片から形成された. 10 $^{\circ}\text{C}$ 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. 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. その生長は, 図2に培養8週間目の茎の組織片からの高さを示したとおり, 10, 15 $^{\circ}\text{C}$ の温度の低光量条件下で比較的良好であり, 10 $^{\circ}\text{C}$, 暗所条件下では平均210 μm であった. なお, 付着器, 主枝の組織片からのもの同様の条件下で良く生長した. 再生細胞は, この後の培養においてもシュート, 仮根などへ分化することなく, さらに, 組織片から切り離されたものが生長することなく枯死した.

カルス細胞は, 表1に示したとおり, 茎, 付着器の各組織片から形成された. 培養を通じて, 茎では10~30 $^{\circ}\text{C}$, 付着器では15, 20 $^{\circ}\text{C}$ の明所条件下で形成された. その生長は, 図3に培養8週間目の茎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, 20 $^{\circ}\text{C}$, 80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 条件下では, 高さの平均値が350 μm で, 細胞塊の直径が2.8mmであった. なお, 付着器の組織片からのもの同様の条件下で良く生長した. 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が明瞭に生長した.

シュートは, 表1に示したとおり, 茎の組織片で形成され, 培養4週間目に瘤上の突起として観察された. 5週間目以降には幼胚からのものと同形の, 単条で扁平した第1~第3初期葉を形成した. シュートは培養を通じて, 15~25 $^{\circ}\text{C}$ の, 暗所以外の7通りの条件下で形成され, 即ち, 15 $^{\circ}\text{C}$ では10 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で, 20 $^{\circ}\text{C}$ では40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で, 25 $^{\circ}\text{C}$ では80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で, 20 $^{\circ}\text{C}$ では40 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 以上で, 25 $^{\circ}\text{C}$ では80 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ の条件下で形成された.

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, 20 $^{\circ}\text{C}$, 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, 15, 20 $^{\circ}\text{C}$ 条件下では2~3葉形成されたが, 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下では5葉形成された.

枝付きフラスコ中で通気培養したシュートは, すべての温度条件下で, 主枝から倒卵形で幅広な葉を発達させた. 主枝に形成された葉は, 図5に写真を示したとおり, 25, 30, 20, 15, 5 $^{\circ}\text{C}$ の順で葉長が大きくなり, 培養6週間目には各々9, 9, 9, 8, 8, 4枚の葉を生じ, 低温条件下では葉の

生長速度，形成数とも小さい値を示した。

全長約5 cmで第1，第2主枝を持つ葉体を，水深1，2，3 mに沖出しした結果は，図6に沖出し14週間目の写真で示したとおり，水深によって生長が大きく異なった。即ち，水深1 mに沖出しした藻体では，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21 cmとなり，31枚の葉を生じた。また，水深2 mに沖出しした藻体では，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20.8 cmとなり，38枚の葉を生じた。これに対して，水深3 mに沖出しした藻体では，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の，沖出し14週間目には，第1主枝の長さが4 cmとなり，16枚の葉を生じたに留まった。

表1 再生細胞，カルス細胞，シュートの形成条件。+：形成が認められた条件

	Temperature (°C)	Branch				Stem					Holdfast					
		Light intensity ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)														
		0	10	20	40	80	0	10	20	40	80	0	10	20	40	80
Fila- mentous Cell	5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	10	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	15	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	20	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	25	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	30	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	35	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Callus	5															
	10							+	+	+						
	15								+	+	+		+	+	+	
	20							+	+	+	+	+	+	+	+	
	25							+	+	+	+					
	30										+					
	35															
Shoot	5															
	10															
	15							+	+	+	+					
	20									+	+					
	25										+					
	30															
	35															

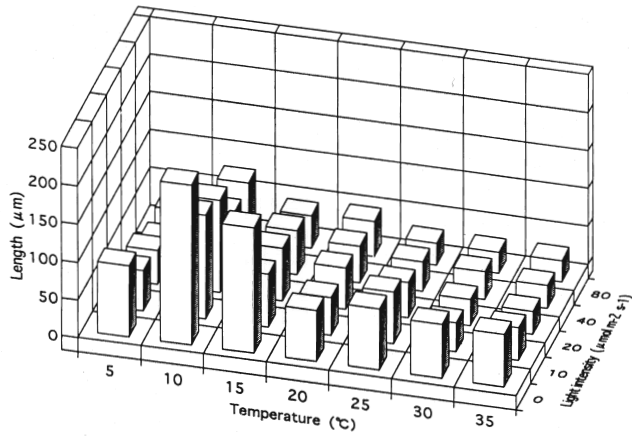


図2 茎から得られた再生細胞の組織片からの高さ。

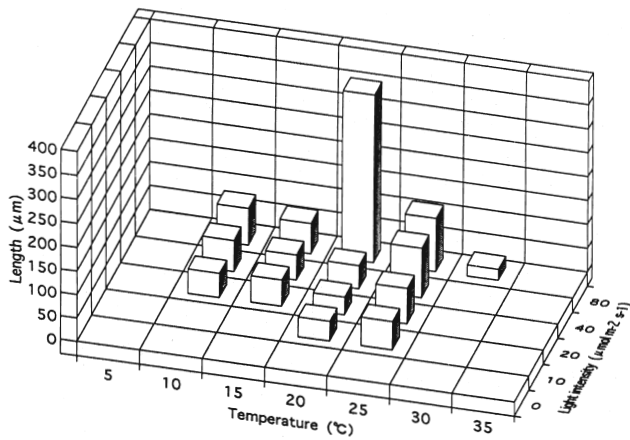


図3 茎から得られたカルス細胞の組織片からの高さ。

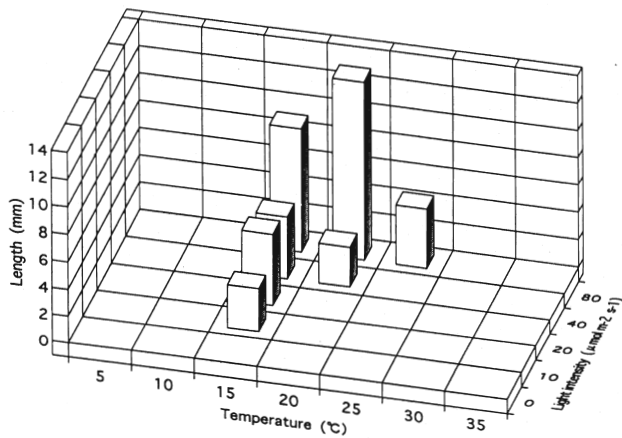


図4 茎から得られたシュートの第1初期葉の長さ。

寒 季

、藻類スルモ、藻類主材料のセキ藻類、果糖六本短き葉が藻類、この節目さ苗葉工人のく子ビスミで
 藻類スルモ出附の水草、おイーエくさうのこ、六本短き葉が藻類の藻類とのイーエくさうの水草の対主
 うこるすは主コ藻類よりアでよコ葉が藻類、このさ、六本短き葉が藻類の藻類とのイーエくさうの水草の対主

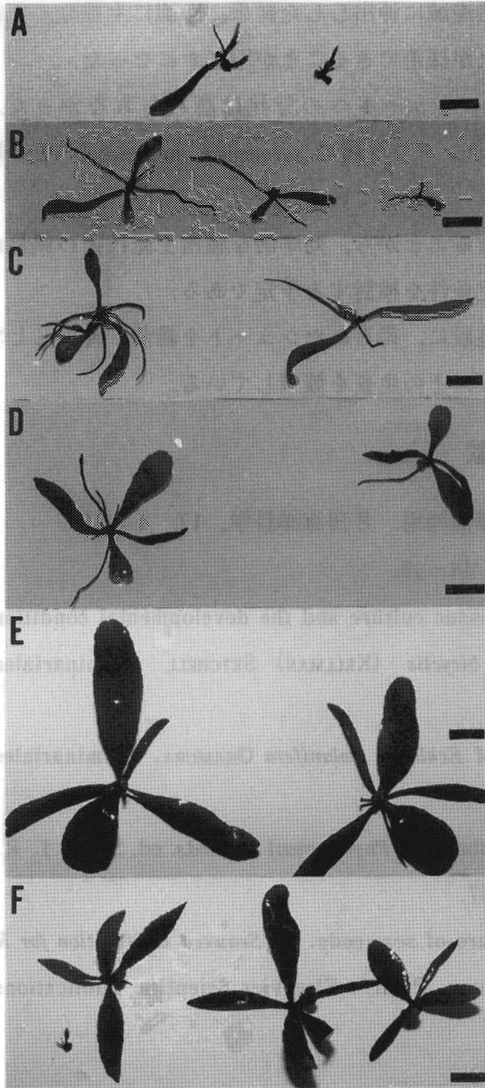


図5 枝付きフラスコ中で培養したシュート。
 A : 5℃, B : 10℃, C : 15℃, D : 20℃,
 E : 25℃, F : 30℃. スケールは1 cm.

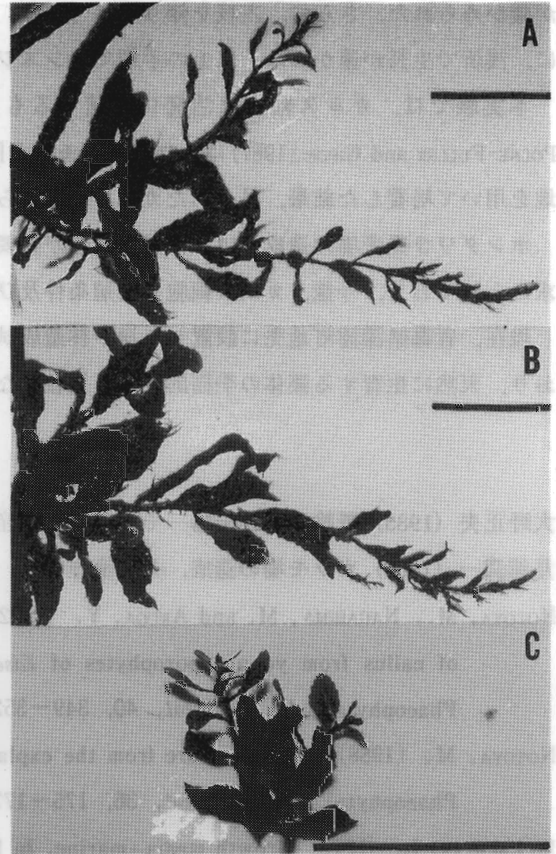


図6 天然海域に沖出しした藻体. A : 1 m,
 B : 2 m, C : 3 m. スケールは5 cm.

考 察

フシスジモクの人工採苗を目的に、組織培養を試みた結果、組織片からは再生細胞、カルス細胞、主枝の発達を伴うシュートの3種類の細胞が形成された。このうちシュートは、茎から摘出した組織片から、20℃前後の高光量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は、天然海域に沖出しした結果、順調に生長し、ことに、浅所で生長が速かった。以上の手順でフシスジモクが採苗できることが明らかになった。

本実験では、カルス細胞は活発に増殖するものの、シュートへの分化は認められなかった。POLNE-FULLER and GIBOR (1987)は、フシスジモクと同じホンダワラ属の *Sargassum muticum* を PESI 培地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の季節的消長と比較しながら、その生長を観察している。

文 献

- 大野正夫 (1985) 概論：ガラモ場—その環境と水産資源的効用。月刊海洋科学, 17, 4—10.
- 月舘潤一 (1985) ガラモ場の造成。月刊海洋科学, 17, 44—49.
- NOTOYA, M., NAGAHIMA, M. and ARUGA, Y. (1992) Tissue culture and the developmental conditions of callus from young sporophytes 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 BENTON, P. H., Elsevier Scientific Publications, Amsterdam, 219—239.