

林木の組織培養に関する研究 (I)

クヌギ組織培養における個体差の発現一

大分県林業試験場 佐々木義則
九州大学薬学部 正山 征洋

1. はじめに

クヌギ、コナラはシイタケ原木として重要な樹種であり、大分県においてはクヌギの人工造林が盛んである。苗木の増殖は種子に依存しているが、種子は豊凶の差が大きいため安定確保が困難で、さらに、実生繁殖では優良個体の固定とその増殖が難しい。さし木に関する研究も行われているが、発根率が低い実用化までには至っていない¹⁾。このようなことから、筆者らは、1986年からクヌギの組織培養に取り組んでおり、一部の培養体は発根までに達している。今回、クヌギの初代および継代培養において、「個体」を中心とし、培養温度、糖濃度、BAP濃度などを検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

本研究を遂行するにあたり、有益な御助言をいただいた国立林試・造伝育種科長の斉藤明博士に謝意を表す。なお、本研究は地域バイテク研究開発促進事業「組織培養による優良個体の増殖技術の開発」の一環として実施したものである。

2. 材料および方法

実験材料には、シイタケ原木育種事業(1978~1982年)で選抜された精英樹候補木からのつき木苗(1年生, 8個体), および大分県林業試験場内の精英樹採種園(1972年設定)から母樹別に種子を採取し, 育成した実生苗(2年生, 8個体)を用いた。1987年3月に地上高30cm前後の部位を断幹し, 天井部分のみにビニールを張ったハウス内に植栽した。初代培養にはこれらの苗木から萌芽した新梢を用いた。

葉を切除し, 腋芽を有する緑枝部分を20mm前後に切断した後, 中性洗剤で2分間洗浄した。その後, 切片を順次70%エチルアルコール3~5分間, 2%次亜塩素酸ナトリウム10分間, 70%エチルアルコール3分間の殺菌処理を行った。無菌水で3回洗浄後, 無菌水中に20~30分間浸漬し培養に用いた。継代培養の際は, 無菌の培養体から伸長したシュートを15~20mmに分割して置床した。初代および継代培養において使用した

培地はWPM⁹⁾で, 支持剤にはゼラライト(3g/l)を用いた。特定の試験を除いてはシュークロース20g/l, BAP 1mg/lなどを加えた培地を使用し, 培養条件は25℃, 6,000ルクス, 明期16時間, 暗期8時間とした。以下に述べる4種類の実験を行った。

(1) 個体別腋芽の初代培養試験

実験期間は5月27日~7月15日で, 実生木4個体および精英樹候補木5個体の計9個体を用い, 個体別の置床数は24~86本とした。

(2) 個体別腋芽初代培養における培養温度別試験

実験期間は5月25日~6月26日で, 精英樹候補木2個体を用いた。培養温度は20, 25, 30℃(恒温)の3段階とした。1処理区あたり25~30本置床した。

(3) 個体別腋芽初代培養における糖濃度別試験

実験期間は6月9日~7月14日で, 実生木2個体を用いた。糖にはシュークロースを使用し, 濃度は10, 20, 30g/lの3種類とした。1処理区あたり16本置床した。

(4) 個体別シュートの継代培養におけるBAP濃度別試験

実験期間は7月14日~8月24日で, 実生木2個体および精英樹候補木2個体由来する2代目のシュートを用い, BAP濃度は0.1, 0.5, 1, 2mg/lの4段階とし, 1処理区あたり3~8本置床した。

3. 結果

9個体について腋芽の初代培養を行った結果, 雑菌汚染率は実生木が33.3~88.5%, 精英樹候補木が70.0~89.5%であり, 個体による差異が大きかった。腋芽が伸長した切片の割合は, 実生木が4.2~66.7%, 精英樹候補木が5.8~14.0%であり, 前者が良好であった。個体別の平均シュート数は1.0~3.4本, 平均シュート長は4.3~11.7mm, 平均最大シュート長は5.6~24.1mmで, 個体差が著しかった。全般的にみると実生木の伸長が優れていた。精英樹候補木においては培養中に褐変枯死する切片が多数観察された。

個体別腋芽の初代培養において温度の影響を調べた

Yoshinori SASAKI (Ooita Pref. Forest Exp. Stn., Hita, Ooita 877-13) and Yukihiro SHOYAMA (Fac. of Pharm. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka 812)

Differences of individual stocks on tissue culture of *Quercus acutissima* Carr

結果は表-1に示すとおりである。兩個体とも高温度区ほど腋芽伸長開始が早く、シュートの発生本数も多かった。しかしながら、シュートの伸長は、豊後高田1号は30℃、院内2号は25℃でそれぞれ促進される傾向が認められた。

個別腋芽初代培養における糖濃度別試験の結果は表-2に示した。シュート発生本数は、18-3では高濃度区で、また、20-6は中間の20‰区で多い傾向が認められた。シュートの伸長は、18-3においては20‰区、20-6は30‰区で促進されるようであり、個体によって異なる反応を示した。

個別シュートの継代培養においてBAP濃度の影響を調べた結果は表-3に示すとおりである。シュート数は、実生木では濃度変化に対する反応が小さかったが、精英樹候補木は高濃度区ほど増加する傾向が認められた。シュートの伸長に関しては、実生木は低濃

表-1 個別腋芽の初代培養における温度の影響

個体	温度 (℃)	生存培養体数		平均シュート数 (本)	平均シュート長 (mm)	平均最大シュート長 (mm)
		腋芽伸長有(本)	腋芽伸長無(本)			
豊後高田1号	20	10	0	2.3	7.1	12.0
	25	5	3	3.4	8.2	13.0
	30	6	2	8.2	8.8	23.3
院内2号	20	8	5	2.1	6.5	7.5
	25	4	5	3.8	15.3	20.0
	30	9	2	4.7	10.5	20.0

表-2 個別腋芽の初代培養における糖濃度の影響

個体	糖濃度 (‰)	生存培養体数		平均シュート数 (本)	平均シュート長 (mm)	平均最大シュート長 (mm)
		腋芽伸長有(本)	腋芽伸長無(本)			
18-3	10	4	1	3.0	6.2	11.3
	20	8	1	3.4	8.0	11.4
	30	7	1	4.1	5.5	9.9
20-6	10	6	1	4.0	11.8	20.7
	20	7	0	7.7	13.2	29.2
	30	11	0	5.3	14.7	32.3

表-3 個別シュートの継代培養におけるBAP濃度の影響

項目	個体	BAP濃度(ppm)				平均
		0.1	0.5	1	2	
1平均シュート数 (mm)	44-1	3.8	4.8	3.5	6.3	4.6
	49-1	5.0	4.4	3.6	4.4	4.4
	院内2号	2.2	3.3	3.2	4.3	3.3
	安心院3号	1.7	2.0	2.3	4.7	2.7
	平均	3.2	3.6	3.2	4.9	3.8
1平均シュート長 (mm)	44-1	14.0	6.6	8.6	5.3	8.6
	49-1	8.4	6.4	5.0	4.0	6.0
	院内2号	4.2	4.0	3.3	2.5	3.5
	安心院3号	3.4	2.5	3.0	4.4	3.3
	平均	7.5	4.9	5.0	4.1	5.4
1平均シュート最大長 (mm)	44-1	19.4	13.0	14.3	8.3	13.8
	49-1	13.0	10.0	8.0	6.6	9.4
	院内2号	5.4	5.8	4.7	3.5	4.9
	安心院3号	4.3	3.0	3.3	6.0	4.2
	平均	10.5	8.0	7.6	6.1	8.1

度区で促進されたが、精英樹候補木は濃度の違いによる伸長差は顕著でなかった。全般的にみると、実生木由来の培養体のほうがシュートの増殖能力が旺盛であった。

4. 考 察

クスギおよびコナラの組織培養に関しては、近年、多数の報告がなされている^{1-8,10,12,13)}。これらの研究においては、胚、上胚軸、播種直後の実生苗などの若い材料を使用し、また、複数の個体を用いた例が大部分を占め、個別培養についての詳細な報告はみられない。

筆者らは、増殖に関して、「個体」を主な要因としてとりあげ、温度、糖濃度、BAP濃度などの要因を組み合わせる実験を行った。これらの結果、いずれも個体による反応が異なっており、組織培養においても個体差が大きいことが判明した。しかしながら全般的には、温度は25~30℃、糖濃度は20‰前後、BAP濃度は0.5mg/l前後が培養に適するものと推察される。若齢の実生木と壮齢の精英樹候補木由来のつぎ木苗を比較すると、シュートの発生本数および伸長が異なり、後者の培養が困難である傾向が認められた。これは一種のエイジング現象と推察され、加齢にともなう内生物質の差異などに起因すると考えられる。今回の実験結果は、クスギの組織培養による増殖において、培地組成や添加ホルモンのみでなく、材料(個体、年齢など)および培養環境(温度、光など)といった面からも研究する必要があることを示唆している。

引用文献

- (1) 玉泉幸一郎：98回日林講要旨集, 103, 1987
- (2) 原口雅人ら：38回日林関東支論, 119~120, 1986
- (3) 井出雄二ら：96回日林論, 347~348, 1985
- (4) IDE, Y. et al. : J. Jpn. For. Soc., 68(11), 472~474, 1986
- (5) 井出雄二ら：日林誌, 69(2), 69~73, 1987a
- (6) ———— : ————, 69(3), 109~112, 1987b
- (7) 九島宏道ら：98回日林講要旨集, 103, 1987
- (8) LEE, B. C. et al. : Res. Rep. Inst. For. Gen. Korea, 21, 104~108, 1985
- (9) LLOYD, G. et al. : Combined Proc. Int. Plant Propagator's Soc., 30, 421~427, 1980
- (10) 中澤慶久ら：林木の育種, 142, 20~22, 1987
- (11) 佐々木義則：12回林業技術シンポジウム講演集, 30~47, 1979
- (12) 佐藤 亨ら：日林誌, 69(3), 113~117, 1987
- (13) 滝尻富士雄ら：34回日林中支論, 57~58, 1986