

# 林木の組織培養に関する研究(I)

## —イヌエンジュの芽ばえを用いた組織培養—

九州林木育種場 戸田 忠雄

### 1. はじめに

*Maackia amurensis* Rupr. et Maxim. var. *Buergeri* C. K. Schneid. は、まめ科の中のカライヌエンジュの変種で北海道の平原、本州では中部地方の海拔1200 mまで自生している。生育は広葉樹の中では比較的良い方で、50年で樹高12 m、幹周1 mにもなり<sup>1)</sup>、材が堅硬で材色が暗褐色であるため特殊用材として、床柱、高級家具類、民芸品等に利用され、大径材はもとより小径材、枝条までも利用されている。九州地方でも宮崎県などで苗生産されているがこれは *Maackia floribunda* Takeda で、葉、花等の形態がイヌエンジュと類似しており、区別は困難であるといわれる。増殖は主に実生による方法がとられ、無性繁殖による方法は数例見られるがいずれも2%前後の発根率である。また実生繁殖の場合、発芽率は90%、得苗率は85%と高いものの種子の豊凶が3~5年で毎年採取できないといわれている<sup>2)</sup>。そのため、大量増殖を目的とした試験管内の増殖を試み、予備的な実験を行ったので報告する。なお実験材料の収集にあたりお世話になった東北林木育種場育種課長金子富吉氏に厚くお礼申し上げる。

### 2. 材料と方法

この種子は1987年3月岩手県岩手町一方井の樹高16 m、胸高直径43 cmの孤立木から東北林木育種場で採種したもので、家庭用冷蔵庫(5°C)に貯蔵し、必要に応じて使用した。

#### 1) 無菌発芽苗

外殖体に必要な無菌苗は1988年1月25日種子の充実したものを選別し、75%エタノールで5分間、塩化第二水銀0.25%溶液で15分間種子の表面をスターラーで回転滅菌し、殺菌水で4回洗浄した後殺菌水へ20時間浸漬して吸水させ、クリーンベンチ内の滅菌紙上で風乾させた。発芽用培地は表一に示したMURASHIGE, T. & SKOOG, F.'62基本培地(MS培地)と寒天にサッカロースを加えただけの2種類の培

地に6-ベンジルアミノプリン(BAP)を0および1 mgを添加した2水準に、ベンレート10 ppmを組み合わせたものである。播種は試験管当たり12 ccの培地を分注し、蒸気滅菌を行い冷却後1粒ずつ行った。発芽率はまき付け後10日目と20日目の2回調査した。

#### 2) 不定芽発生

1試料から外殖体を多数得ることは大量増殖法において最も重要なことであるが、それには不定芽発生量と伸長量が旺盛なものほど望ましい。ここではこれらに関連した実験を行った。1988年2月18日表一に示したWoody Plant Medium(WPM)'82基本培地(WPM培地)にサッカロース20 gと寒天8 g/lを加え、それに植物ホルモンBAPの0, 0.5及び1.0 mg/lの3水準を設けた。

さらにナフタレン酢酸(NAA)をそれぞれ0, 0.5 mg/l組み合わせ、pH 5.4に調整した不定芽発生培地に1)で得られた無菌発芽苗の胚軸を5 mm程度に調整し、外殖体として移植した。40日目に不定芽発生個体数、個体当たりの不定芽本数等について調査を行った。

#### 3) 発根

1988年4月6日表一に示したWPM培地にサッカロース10 g、寒天8 g/lを加え、NAAを0.01, 0.20, 0.50 mg/lの3水準にインドール酪酸(IBA)を0, 0.5 mg/lを組み合わせて添加し、pHを5.4に調整して、2)で最も生育の良かった試験区No 23の不定芽を発根培地へ移植した。

移植後40日目に根長5 mm以上のものを対象に発根個体数、根数、根の形態等について調査した。各実験とも1試験区25本とし、九州林木育種場の組織培養室で24°Cの恒温条件下で1日16時間3000 Luxの蛍光照明で培養を行った。

### 3. 結果と考察

#### 1) 無菌発芽苗

まき付け20日目における無菌苗の発芽状況を表一に示した。MS培地の場合BAP 0 mgで76%、1 mgで68

Tadao TODA (Kyushu Forest Tree Breed. Inst., Nishigooshi, Kumamoto 861-11)

Studies on the tissue culture of forest trees (I) The tissue culture by germinated seed of *Maackia amurensis*

%と無添加が良いが寒天のみ場合はBAP 0mgは24%, 20% BAP 1mgでは32%, 28%と添加した方が幾分良好であった。また、発芽個体のうち、根部が培地内に侵入して伸長するのはMS培地のものが100%であったのに対して寒天培地のものでは48%であった。

2) 不定芽の発生

不定芽の発生は置床後10日目にはBAPを添加したNo.23~26の各試験区で見られた。40日後の結果は表-2に示したが不定芽の発生が認められたものはNo.24の20個体(80%)以外ではすべて100%であった。しかし不定芽発生本数は試験区によって異なり平均1.5 (No.21・22)~15.6本 (No.25)で、最も多かった個体はNo.25の24本であった(写真)。また不定芽の伸長量はNo.23及びNo.25の試験区で平均40mmと良好であったのに対して他の試験区では2~25mmでバラツキも多く、しかもNo.24, 26では不定芽の先端が褐変する個体も見られた。不定芽発生過程の発根は培地に含まれる成分や添加ホルモン、水分等の消

費量が多くなり不定芽発生量やその後の生育に影響を与えることも予想される。今回の実験ではNo.21で21個体、No.22の試験区において25個体に発根がみられ、特にNAA単用添加区では平均根数が9.4本と多かった。

3) 発根

発根培地へ移植後40日目の結果は表-3に示した。発根率は44 (No.36)~84 (No.31)%でNAAの単用区でしかも低濃度が良好な結果が認められた。また、IBAを組み合わせた結果では発根率の向上は認められずむしろ逆の効果がうかがわれた。根数も発根率と同様に平均根数で3.1 (No.36)~7.8本 (No.31)と試験区によってバラツキが見られた。根の形態は馴化に適した中程度のものがNo.31, 32及びNo.34の試験区で多く認められた。以上の結果、不定芽発生過程から発根過程における最適条件の値を用いて種子1粒からの幼植体数を試算すれば、約100日で48,384本が生産されることになる。馴化過程、成木からの増殖等不明なことも多いため、今後継続して実験を進める予定である。

表-1 イヌエンジュの無菌苗の発芽状況

No.	発芽培地	BAP	ベンレート	発芽本数 (%)	
				10日目	20日目
1	MS	0mg	—	11 (44)	19 (76)
2	MS	1mg	—	9 (36)	17 (68)
3	寒天のみ	0mg	—	5 (20)	6 (24)
4	寒天のみ	1mg	—	7 (28)	8 (32)
5	寒天のみ	0mg	10ppm	4 (16)	5 (20)
6	寒天のみ	1mg	10ppm	5 (20)	7 (28)

蔗糖20%, 寒天8g/l, pH 5.4

表-2 イヌエンジュの不定芽発生

No.	ホルモンmg/l		カルス 個体数	発根 個体数	不定芽の発生	
	BAP	NAA			個体数	本数( )平均
21	0	0	0	21	25	1~3 (1.50)
22	0	0.5	25	25	25	1~3 (1.50)
23	0.5	0	25	0	25	5~23 (10.50)
24	0.5	0.5	25	0	20	1~8 (4.20)
25	1.0	0	25	0	25	12~24 (15.60)
26	1.0	0.5	25	0	25	1~10 (3.90)

WPM基本培地, pH: 5.4, 蔗糖: 20g/l, 寒天: 8g/l

表-3 イヌエンジュの発根

No.	ホルモンmg/l		発根 個体数 (%)	根数 ( )平均	根の区分別 個体数		
	NAA	IBA			太い	中	細い
31	0.01	0	21 (84)	2~14 (7.8)	1	13	7
32	0.20	0	18 (72)	1~12 (6.3)	2	12	4
33	0.50	0	15 (60)	1~11 (5.7)	7	4	4
34	0.01	0.5	20 (80)	2~10 (4.5)	1	10	9
35	0.20	0.5	16 (64)	1~7 (3.5)	10	2	4
36	0.50	0.5	11 (44)	1~7 (3.1)	8	3	0

根長5mm以上を対象, WPM基本培地, 蔗糖: 10g/l, 寒天: 8g/l, pH: 5.4

引用文献

- (1) 上原敬二: 樹木大図説(II), pp479~480, 1964
- (2) 齊藤昭夫・工藤直樹: 北海道営林局業務研究発表集録, 109~114, 1983

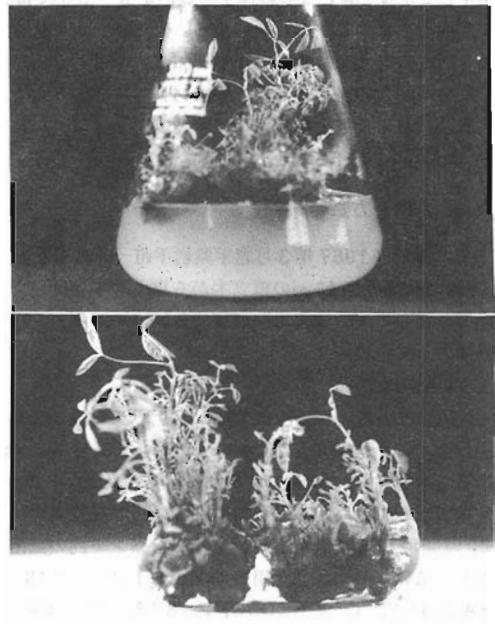


写真-1 外植体からの不定芽の発生 (No.25)  
置床40日目, カルスが肥大し不定芽が多数発生