

林木の組織培養に関する研究 (IV)

— クヌギの培養シュートの発根における個体、培地組成および培養環境の影響 —

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

初代培養および継代培養によりシュートを増殖した後、次に問題になるのは、発根による幼植物体の再生であろう。発根培養の研究においても、培地組成が中心であり、個体および培養環境を加えて検討した例は少ないようである⁹⁾。このようなことから、筆者らは個体、培地組成及び培養環境の3要因を組み合わせ発根に及ぼす影響を調べた。

本研究は、地域バイオテクノロジー研究開発促進事業「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。本実験を遂行するにあたり、試薬、光質ランプなどを提供していただいた関係各位に謝意を表する。

2. 材料および方法

実験材料には、種子胚および新梢腋芽を外植体とし継代培養中の個体のうち、伸長の良好なものをを用いた。

基本培地はWPM¹⁾で、無機塩濃度は1/2とし、ビタミン類としては、塩酸チアミンを1.0mg/ℓ、ニコチン酸を0.5mg/ℓそれぞれ添加した。培地支持剤にはゼラライト(3g/ℓ)を用いた。シュークロス濃度は、実験-Ⅱ、Ⅲのみ10g/ℓとした。オーキシンとしてはIBAを0.1mg/ℓ添加した。培養環境条件は、

表-1 発根培養試験における実験要因および水準

実験	要因	水準
I	個体(A)	A ₁ , A ₂ (2個体)
	培地(B)	シュークロス(g/ℓ), B ₁ :2, B ₂ :5, B ₃ :10, B ₄ :20
	温度(C)	C ₁ :変温(27-21°C), C ₂ :定温(25°C)
II	個体(A)	A ₁ , A ₂ , A ₃ (3個体)
	培地(B)	DAS-211(g/ℓ), B ₁ :0, B ₂ :0.5, B ₃ :1, B ₄ :2
	照度(C)	C ₁ :弱光(2000lux), C ₂ :強光(8000lux)
III	培地(A)	リーフソ(mℓ/ℓ), A ₁ :0, A ₂ :0.5, A ₃ :1, A ₄ :2
	光質(B)	B ₁ :FL40SSD, B ₂ :FL40SPG, B ₃ :FL40SN-EDL, B ₄ :FL40SS-EX-N
	個体(C)	C ₁ , C ₂ (2個体)

注) 光質ランプ一般名B₁:ハイライト, B₂:ホモルクス, B₃:リアルクス, B₄:バルック

25±1°C, 4,000ルクス, 明期16時間, 暗期8時間とした。各実験とも1区あたりの試験管数は10本前後とし、1試験管あたり2~3本の切片(20mm前後)を置床した。培養期間は6~8週間とした。

発根試験における実験要因および水準は表-1に示した。実験-Ⅰにおける変温処理は27°C16時間, 21°C8時間とした。実験-Ⅱで用いたDAS-211は希土類元素を含む天然石の微粉末で、発根などに有効とされている⁹⁾。実験-Ⅲで使用したリーフソは、腐植物(32.5%), N2.3%, P₂O₅10.4%, K2.2%などを含む液体である。また、光質ランプはいずれも市販品である(分光特性等はNationalランプ総合カタログ'88-11を参照)。各処理区について、発根率、平均根数、平均最大根長、平均最大シュート長を算出し、これらの値を用いて分散分析を行い、各要因および要因間の相互作用などを調べた。

3. 結果

実験-Ⅰにおける統計分析結果を表-2に示した。発根率においては、いずれの要因も有意ではなかったが、シュークロス濃度は5g/ℓ区、温度では定温区で発根が促進される傾向が認められた。根数ではC要因のみが有意であり、定温区よりも変温区のほうが多かった。根長ではいずれの要因も有意ではなかったが、シュークロス濃度が高くなるにつれて長くなる傾向が認められた。シュート長のA×C(個体×温度)の相互作用についてみると、A₁個体は変温で伸長が促進されたが、A₂個体は温度に対する感応がほとんど認められなかった。

実験-Ⅱにおける統計分析結果を表-3に示した。A要因(個体)は、シュート長のみにおいて有意であり、A₃個体のシュート伸長が最も旺盛であった。B要因(培地)は、発根率で有意性が認められ、B₃およびB₄区は発根率が劣り効果はなかった。C要因(照度)は、いずれの項目においても有意性がなかった。個体別にみる

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

Studies on tissue culture of forest trees (IV) Effects of stocks, media and environments on rooting culture of *Quercus acutissima*

と、C₁、C₂個体は弱光で、C₃個体は強光で発根が促進される傾向が認められた。

実験-Ⅲにおける統計分析結果を表-4に示した。A要因(培地)はすべての項目において有意でなく、効果はなかった。B要因(光質ランプ)は発根率及びシュート長において有意であった。発根率ではB₂区が最も低いことが判明した。シュート長においてはB₃区が最も長かった。C要因(個体)は発根率およびシュート長で有意であり、発根率ではC₁個体、シュート長ではC₂個体がそれぞれ大きな値を示した。最大シュート長のB×C(光質×個体)についてみると、個体C₁は光質ランプへの反応が小さかったが、個体C₂はランプB₃で良好な伸長を示した。

4. 考 察

クヌギの発根培養においては、培地組成に関する研究が多く、個体および培養環境を加味した報告は少ない²⁾。筆者ら^{3,4)}は前報で、クヌギ継代培養時における個体、培地、培養環境の影響を検討し、培地のみでなく個体および培養環境も影響が大きいことを報告した。

今回、筆者らは、個体、培地、培養環境の3要因を組み合わせ、発根などにおよぼす影響を検討した。その結果、個体の影響は、各実験において個体要因単独または他の要因との相互作用として発現しており、発根よりもシュート長に現れやすいことが判明した。培地では、シュークロス濃度は5g/l前後が発根に適している傾向が認められた。DAS-211及びリーフランには添加効果は認められなかった。培養環境条件のうちの温度では、定温で発根率が向上する傾向が認められ、根数は変温で増加することが判明した。照度の影響はあまり認められず継代培養の場合⁵⁾とは異なるものと考えられる。光質ランプ別の発根率ではホルムクスに比べて、ハイライト(通常型)、リアルクス、パルッ

クのほうが高く、また、シュート伸長においてはリアルクスで最も優れた結果が得られたことから、これら4種類のランプのなかではリアルクスが発根培養に最も適するものと考えられる。

以上のことから、発根培養においても、培地組成だけでなく、個体および培養環境も影響が大きいことが判明し、今後留意する必要があると思われる。

引用文献

- (1) LLOYD, G. et al. : Comb. Proc. Int. Plant. Soc., 30, 421~427, 1980
- (2) 最新バイオテクノロジー全書編集委員会(編): 木本植物の増殖と育種, pp. 269, 農業図書, 東京, 1989
- (3) 佐々木義則ら: 日林九支研論, 41, 63~64, 1988
- (4) ———: ———, 43, 57~58, 1990
- (5) 田沢一二ら: 育種, 39(別1), 72~73, 1989

表-2 個体, 培地, 温度別発根培養における分散分析および水準間の検定(実験-Ⅰ)

項目	要因	有意性 (F)	水準別の平均値	水準間の検定 (5%水準)
発根率 (逆正弦変換値)	A	0.15 ^{ns}	A ₁ =42.59, A ₂ =41.10	—
	B	1.80 ^{ns}	B ₁ =41.63, B ₂ =49.20, B ₃ =39.61, B ₄ =36.94	—
	C	5.23 ^{ns}	C ₁ =37.35, C ₂ =46.34	—
平均根数 (本/本)	A	0.18 ^{ns}	A ₁ =2.01, A ₂ =1.95	—
	B	4.79 ^{ns}	B ₁ =2.38, B ₂ =1.90, B ₃ =1.75, B ₄ =1.90	—
	C	18.70 [*]	C ₁ =2.25, C ₂ =1.71	C ₂ < C ₁
平均最大根長 (cm/本)	A	6.43 ^{ns}	A ₁ =3.19, A ₂ =4.44	—
	B	6.68 ^{ns}	B ₁ =1.61, B ₂ =3.23, B ₃ =4.46, B ₄ =5.22	—
	C	0.12 ^{ns}	C ₁ =3.90, C ₂ =3.73	—
平均最大シュート長 (cm/本)	A	7.78 ^{ns}	A ₁ =3.22, A ₂ =2.68	—
	B	0.77 ^{ns}	B ₁ =2.90, B ₂ =2.79, B ₃ =3.18, B ₄ =2.93	—
	C	2.19 ^{ns}	C ₁ =3.09, C ₂ =2.81	—

注) 平均最大シュート長のA×Cのみ5%水準で有意
 * : 5%水準で有意, ** : 1%水準で有意, N.S. : 有意性なし
 ns : 有意差なし, < : 5%水準で有意差あり, (以下同様)

表-3 個体, 培地, 照度別発根培養における分散分析および水準間の検定(実験-Ⅱ)

項目	要因	有意性 (F)	水準別の平均値	水準間の検定 (5%水準)
発根率 (逆正弦変換値)	A	3.29 ^{ns}	A ₁ =39.25, A ₂ =49.57, A ₃ =46.43	—
	B	6.18 [*]	B ₁ =52.27, B ₂ =52.37, B ₃ =38.49, B ₄ =37.21	B ₁ ≧ B ₂ < B ₃ ≧ B ₄
	C	0.24 ^{ns}	C ₁ =45.91, C ₂ =44.26	—
平均根数 (本/本)	A	0.04 ^{ns}	A ₁ =1.72, A ₂ =1.76, A ₃ =1.68	—
	B	0.04 ^{ns}	B ₁ =1.77, B ₂ =1.71, B ₃ =1.74, B ₄ =1.65	—
	C	2.66 ^{ns}	C ₁ =1.50, C ₂ =1.94	—
平均最大根長 (cm/本)	A	3.32 ^{ns}	A ₁ =4.09, A ₂ =3.60, A ₃ =2.71	—
	B	2.20 ^{ns}	B ₁ =3.94, B ₂ =3.94, B ₃ =3.44, B ₄ =2.54	—
	C	0.02 ^{ns}	C ₁ =3.49, C ₂ =3.44	—
平均最大シュート長 (cm/本)	A	13.81 [*]	A ₁ =1.31, A ₂ =1.50, A ₃ =2.36	A ₁ ≧ A ₂ < A ₃
	B	0.23 ^{ns}	B ₁ =1.61, B ₂ =1.74, B ₃ =1.76, B ₄ =1.80	—
	C	0.96 ^{ns}	C ₁ =1.64, C ₂ =1.81	—

注) A×B, A×C, B×CはすべてN.S.

表-4 培地, 光質, 個体別発根培養における分散分析および水準間の検定(実験-Ⅲ)

項目	要因	有意性 (F)	水準別の平均値	水準間の検定 (5%水準)
発根率 (逆正弦変換値)	A	1.03 ^{ns}	A ₁ =53.76, A ₂ =49.79, A ₃ =48.10, A ₄ =54.27	—
	B	4.51 [*]	B ₁ =51.69, B ₂ =43.11, B ₃ =52.73, B ₄ =58.38	B ₁ < B ₂ ≧ B ₃ ≧ B ₄
	C	20.00 [*]	C ₁ =58.12, C ₂ =44.84	C ₂ < C ₁
平均根数 (本/本)	A	1.10 ^{ns}	A ₁ =1.85, A ₂ =1.59, A ₃ =2.14, A ₄ =1.67	—
	B	1.40 ^{ns}	B ₁ =1.71, B ₂ =1.59, B ₃ =2.22, B ₄ =1.73	—
	C	0.27 ^{ns}	C ₁ =1.75, C ₂ =1.87	—
平均最大根長 (cm/本)	A	0.99 ^{ns}	A ₁ =4.28, A ₂ =4.47, A ₃ =3.77, A ₄ =3.86	—
	B	0.52 ^{ns}	B ₁ =4.39, B ₂ =4.10, B ₃ =3.81, B ₄ =4.06	—
	C	3.98 ^{ns}	C ₁ =4.41, C ₂ =3.76	—
平均最大シュート長 (cm/本)	A	0.96 ^{ns}	A ₁ =2.58, A ₂ =2.37, A ₃ =2.42, A ₄ =2.61	—
	B	6.54 [*]	B ₁ =2.30, B ₂ =2.38, B ₃ =2.94, B ₄ =2.36	B ₁ < B ₂ ≧ B ₃ ≧ B ₄
	C	49.15 [*]	C ₁ =2.09, C ₂ =2.90	C ₁ < C ₂

注) 平均最大シュート長のB×Cのみ水準で有意