

## トチュウの組織培養に関する研究

## — 胚軸培養による個体再生 —

日立造船機技術研究所 中沢 慶久・柏原 義忠  
仲田 俊之  
九州東海大学農学部 戸田 義宏

## 1. はじめに

トチュウ〔杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.)〕はトチュウ科 (Eucommiaceae) に属する1科1属1種の落葉高木であり、中国雲南省・貴州省・湖南省に広く分布し、葉や樹皮を折って引くと、白色糸状の硬性ゴム質 (グッタペルカ) を引くなど特徴のある樹木である。本種は薬用として古くから服用され、樹皮や葉は生薬または飲用として愛用されている。近年、国内においても薬用、その他の用途のため広く栽培されるようになり、現在では長野県や福岡県などで約500haほどの栽培面積に及んでいる。

トチュウの苗木繁殖は種子に依存しているが、国内の採種用母体そのものが少なく、種子は豊凶の差があり、しかも雌雄異株のため種子の安定確保が困難である。更に現行の種子繁殖では育種を行う上で優良系統の固定と増殖が難しく、挿し木などの栄養繁殖を試みたが活着数が極めて低いなど、種苗生産や育種上数々の問題点があり、早急に実用的な増殖法を開発する必要がある。

そこで本研究は、脱・再分化が容易とされる胚軸について組織培養を試みたところ、シュート分化から個体再生まで若干の成果を得たので報告する。

なお、本研究を遂行するにあたり御協力を賜った熊本県林業技術研究指導所の大野和人技師に厚く御礼を申し上げる。

## 2. 材料及び方法

実験材料は、熊本県林業研究指導所の実験林所有の樹齢約30年生のトチュウ雄株より採集 (1988年10月) した種子を用いた。

まず、種皮を除去し裸出した完熟胚 (上胚軸・下胚軸を含む約2cmの大きさ) を取り出した後、中性洗剤で良く洗浄し、その後、70%エチルアルコールで1~2分間、次に2%次亜塩素酸ナトリウムで10~20分間

殺菌処理を行い、滅菌水で3回洗浄した後培地内に置床した。

初代および継代培養で用いた培地はBTM (Broad leaved tree medium 1984)<sup>1)</sup> で、支持体にジェランガム (2g/ℓ) と寒天 (8g/ℓ) を使用した。

添加物はシュークロース (30g/ℓ) とBA (6-Benzylaminopurine) を加えた培地、また、ホルモン無添加培地に発根を促すため、NAA ( $\alpha$ -Naphthalene acetic acid) 100ppm液に数秒間浸漬処理を行なった。

培養条件として、温度は25±2℃、明所と暗所条件 (発根培地のみ) を設定し明所は照度3000Lux、16時間日長とした。

## 3. 増殖の手法

胚軸を利用した増殖法は、まず、種子内部の胚を取り出し殺菌処理を行なったあと、サイトカイニン添加の寒天又はジェランガム培地に胚を置床し発芽させる。

そして、得られた植物体の上胚軸を0.5~1cm程の長さで切り、前述した培地条件で上胚軸切り口部から多数のシュートを誘導させる。その後、シュートを発根培地に移植し発根を促す幼植物体を得る方法と、胚軸切り口部由来のシュートを更に継代培養によって再増殖させる方法を行なった。

## 4. 結果及び考察

摘出したトチュウの胚に、BAを0, 1.0, 2.5, 5.0mg/ℓ添加し、サイトカイニンによるマルチプルシュートの形成を試みたものについては、シュートを得ることができなかった。木本性植物の場合、一般にサイトカイニン添加の培地で培養を行なうと、マルチプルシュートを形成する傾向にあるが<sup>2,3)</sup>、トチュウの胚はその傾向がみられず胚による増殖は困難と思われる。しかし、トチュウの胚は表-1に示すように、サイトカイニンを添加することによって、上下胚軸の伸長を促進

する傾向にあることが明らかになった(図-1)。

得られた上胚軸を約0.5~1.0cmに切断し、BAを0.5~1.0mg/l添加したBTM培地に置床し培養した結果は、表-2に示すようにBA濃度が高い程シュート分化率が高くなる傾向にあり、平均4~5本のシュートが認められた(図-2)。また、基部に少量のカルス形成したものや、マルチプルシュートを形成した個体もみられた(図-3)。

シュートの基部をNAA100ppm液に数秒間浸漬し、BTM培地(ホルモン無添加)に挿し木したところ、表-3に示すように、培地全区間で発根がみられ、明所・暗所ともに寒天を用いた培地について約40%程の発根がみられた(図-4)。

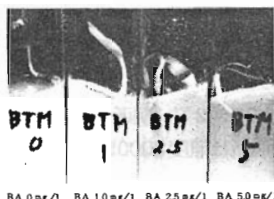


図-1 トチュウ胚培養によって発芽した個体

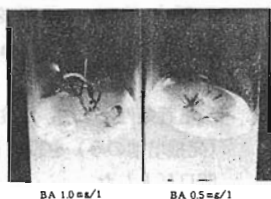


図-2 トチュウ上胚軸培養によって得られたシュート

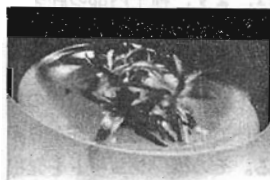


図-3 胚軸培養によって得たシュートを継代培養し得られたマルチプルシュート



図-4 胚軸培養によって得たシュートからの発根



図-5 トチュウ胚軸培養によって得られた再分化個体(約2ヵ月後)

その後、In vitroで得た幼植物体をバーミキュライトに移植し、ミスト室内で馴化・育成を行なった(図-5)。

今回の胚軸切り口から誘導したシュートは、筆者らが先に報告した莖節切り口由来のシュート分化と同じ現象であり、今後、トチュウの増殖は切り口からシュートを誘導し、植物体を得る方法が良いと考えられる。また、莖節由来のシュートは発根が非常に難しい。しかし、胚軸由来のシュートは容易に発根することが明らかになった。

以上の結果から、トチュウの大量増殖は胚軸培養により可能であることを見いだした。今後は、精英樹など成木からのクローン増殖について、シュートのAgeとホルモン処理方法を更に検討する必要がある。

### 引用文献

- (1) CHALUPA V. : Biologia Plantarum, 26 (5), 374~377, 1984
- (2) 玉泉幸一郎: 第98回日林講, 445~446, 1987
- (3) 久島 繁: 植物組織培養, 3 (2), 95~98, 1986
- (4) 中沢慶久ら: 第100回日林講要旨集, 124, 1989

表-1 トチュウ種子の胚培養による発芽率

6-BA (mg/l)	培養数	発芽数	発芽率 (%)
0	25	17	68
0.1	25	25	100
2.5	25	25	100
5.0	25	25	100

表-2 トチュウ上胚軸培養によるシュートの分化数とカルス形成数

6-BA (mg/l)	多植体数	シュート数	カルス形成数
0.5	25	6(24)	25*
1.0	25	12(48)	25*

( ) はシュート分化率%

\*カルスの大きさ: 3~5mm

表-3 トチュウ上胚軸培養により得られたシュートの発根率

培養条件	多植体数	発根数	発根率
明所	寒天	11	36.7
	ジェランガム	7	23.3
暗所	寒天	8	40.0
	ジェランガム	2	10.0