

# 林木の組織培養に関する研究 (VII)

## — クヌギ培養シュートの発根における添加物質の影響 —

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

継代培養によりシュートを増やした後、幼植物体を再生させる過程においては、シュートからの発根促進が重要となる。そこで、今回、4種類の添加物質を用い、発根におよぼす影響を調べてみた。

添加物質のうち、ブラシノライドはブラシノライド研究会、低分子キトサンおよびNK-828メチルは日本化薬(株)・上尾研究所の二谷文夫氏、志田篤彦氏から提供していただいた。ここに深謝の意を表す。

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。

### 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、継代培養中のシュートのうち、伸長の良好な個体を用いた。

基本培地はWPM<sup>9)</sup>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。シュークロース濃度

はD-マンニトールの実験のみ5g/lとし、他は10g/lとした。オーキシンの実験を除いた他の実験においてはIBAを0.1mg/l添加した。

培養環境条件は25±1℃、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10~20本の切片(30mm前後)を置床した。培養期間は6~8週間とした。

実験計画は表-1に示した。ブラシノライドはオーキシン、サイトカイニン、ジベレリン様の多様な活性を示す物質である<sup>1)</sup>。D-マンニトールは浸透圧調節のため使用した。低分子キトサンは分子量が約4,500で、多様な活性を持つとされている<sup>2,4)</sup>。NK-828メチルは5,6Cl<sub>2</sub>-IAAメチルエステルとも呼ばれ、天然のIAAに似た構造を有する新オーキシンである<sup>3)</sup>。

### 3. 結果

各実験において、処理区別の発根率を算出し、これらの逆正弦変換値を用いて分散分析を行った結果は表-2に示した。いずれの実験においても薬剤濃度間に有意差があり、また個体間ではD-マンニトールおよびオーキシンの実験でそれぞれ有意差が認められた。オーキシンの種類間にも有意差があった。

表-1 実験計画

実験薬剤	濃度	使用個体数
ブラシノライド	0, 0.001, 0.01, 0.1mg/l	5
D-マンニトール	0, 5, 10, 20g/l	5
低分子キトサン	0, 25, 50, 100mg/l	5
オーキシン	IBA: 0.1, 1mg/l NK-828メチル: 0.1, 1mg/l	4

注) 各個体はそれぞれの濃度毎に供試本数がほぼ同数となるように使用した。

表-2 分散分析結果(分散比)

実験薬剤	種類	濃度	個体
ブラシノライド	-	18.58**	0.14 <sup>ns</sup>
D-マンニトール	-	36.43**	4.32*
低分子キトサン	-	3.87*	0.75 <sup>ns</sup>
オーキシン	356.67**	18.95*	505.21**

注) オーキシンでは濃度×個体(交互作用)に1%水準で有意性あり。「個体」は1本の苗木の腋芽あるいは1個の種子の胚に由来している。

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

Studies on tissue culture of forest trees (VII) Effects of some additives on root formation of *Quercus acutissima*

ブラシノライド濃度別実験の結果を表-3に示した。個体IIを除く4個体においては、0.001mg/ℓ区で発根が促進されたが、それ以上の高濃度では反対に阻害される傾向が認められた。

D-マンニトール濃度別実験の結果は表-4に示した。高濃度になるほど急激に発根率が低下し、添加効果はなかった。

表-5には低分子キトサン添加濃度別実験の結果を示した。25mg/ℓ区および50mg/ℓ区は無添加区よりも発根率が高く効果が認められた。100mg/ℓ区は前2区よりも発根率が低く効果的ではなかった。

オーキシンの種類および濃度別実験の結果を表-6に示した。種類別ではNK-828メチルのほうがIBAよりも効果的であった。濃度の影響は平均値と比較した場合、両オーキシンともにあまり差異は認められないが、個体別にみると個体IおよびIVは低濃度区、一方、個体IIIは高濃度区で発根が促進される傾向が認められ、個体によって濃度に対する反応が異なった。

#### 4. 考 察

ブラシノライドは近年開発されたホルモン様物質であり、農園芸分野においては多くの研究がなされている<sup>1)</sup>。キトサンなどは医学から農学までの広い分野にわたって種々の効果が報告されている<sup>3, 4)</sup>。NK-828メチルは最近開発された新オーキシンで、強い活性を有することが報告されている<sup>2)</sup>。林木の組織培養研究においてはこのような新規の生理活性物質を使用した報告はみあたらない。

筆者らは、これらの生理活性物質および浸透圧調節剤であるD-マンニトールが、クヌギ培養シュートの発根におよぼす影響を調べるため4種類の実験を行った。その結果、いずれの物質も発根に大きな影響をおよぼすことが判明した。ブラシノライドは低濃度区(0.001mg/ℓ)では発根を促進したが、高濃度においては阻害作用が大きいことが判明した。ブラシノライドについてはさらに低濃度域での影響を検討する必要がある。D-マンニトールの高濃度添加は発根を強く阻害したことから、高浸透圧は発根には不利と考えられる。低分子キトサンの25~50mg/ℓ添加は発根を促進する傾向が認められたが、これがどのような原因によるものかは興味深い問題と思われる。新オーキシンのNK-828メチルはIBAに比べて発根促進作用が強いことが判明したが、濃度効果は判然とせず、今後再検討する必要がある。

#### 引用文献

- (1) 藤田文雄：化学と生物，23(11)，717~725，1985
- (2) 片山正人ら：植物細胞工学，2(4)，487~502，1990
- (3) キチン・キトサン研究会編：最後のバイオマス，キチン，キトサン，268pp. 技報堂出版，東京，1988
- (4) —————：キチン，キトサンの応用，321pp. 技報堂出版，東京，1990
- (5) LLOYD, G. et al. : Comb. Proc. Int. Plant Propagator's Soc., 30, 421~427, 1980

表-3 ブラシノライドが発根におよぼす影響

ブラシノライド (mg/ℓ)	個 体					平 均
	I	II	III	IV	V	
0	33.3	50.0	37.5	23.8	53.8	37.8
0.001	37.5	30.8	48.1	55.0	81.8	50.6
0.01	14.3	7.1	5.3	17.6	0.0	8.7
0.1	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	1.3
平 均	20.7	21.2	26.5	24.4	32.7	25.5

表-4 D-マンニトールが発根におよぼす影響

D-マンニトール (g/ℓ)	個 体					平 均
	I	II	III	IV	V	
0	47.1	62.5	33.3	54.5	50.0	48.4
5	17.6	16.7	18.2	18.2	33.3	21.1
10	5.9	12.5	0.0	18.2	35.7	14.5
20	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7	1.8
平 均	17.9	23.3	13.6	23.8	32.1	22.0

表-5 低分子キトサンが発根におよぼす影響

低分子 キトサン (mg/ℓ)	個 体					平 均
	I	II	III	IV	V	
0	46.7	18.8	33.3	33.3	37.5	33.3
25	66.7	50.0	61.5	66.7	25.0	57.1
50	53.3	56.3	46.2	64.7	75.0	58.0
100	40.0	37.5	53.8	50.0	37.5	44.3
平 均	51.7	40.6	49.0	53.5	43.8	48.2

表-6 IBAおよびNK-828メチルが発根におよぼす影響

オーキシン	濃度 (mg/ℓ)	個 体				平 均
		I	II	III	IV	
IBA	0.1	50.0	54.5	6.3	8.7	20.4
	1	25.0	50.0	16.7	4.2	17.9
NK-828 メチル	0.1	75.0	70.0	22.2	21.7	34.5
	1	50.0	70.0	33.3	19.0	35.8
平 均		50.0	61.0	20.0	13.2	27.1