

クリ胚培養により増殖された無菌苗の環境順化

熊本県林業研究指導所 山下 裕史

1. はじめに

近年、広葉樹の造林に関心が高まっているが、組織的な苗木生産はまだまだ数樹種に限られている。筆者は広葉樹の中では比較的短伐期で利用できる可能性があるクリ (*Castanea crenata*) を対象として、用材利用を目的とした育種の一貫として、組織培養による苗木増殖に取り組んでいるが、順化の際にかなりのロスがあり、実用的水準には至っていない⁹⁾。現在用いている発根培地は、固化剤として寒天を0.8%か gelrite を0.2% 添加したゲル状の培地を用いているが、これにより発根した植物体は、根の表面が平滑で細根が全く見られない。これらの個体をクヌギの培養苗で好成績を得た地上部を過湿に保つ方法⁹⁾で順化しても、ほとんどすべてが枯死してしまうため、順化のためには根の健全な個体を培養する必要があると考えられる。一方山本らはクヌギの培養において、発根培地の支持体としてパーミキュライト等を用いることにより、発根と順化に好成績を得ている⁹⁾。

そこで今回は、クリの無菌シュートを用い、順化率向上のため発根培地の物理性を検討し、新たな順化法を開発したので報告する。

2. 材料と方法

材料には、野生クリから胚培養により得られた無菌シュートを、Broad-leaved tree medium (BTM) に6-ベンジルアミノプリン (BAP) を0.1ppm添加した培地で増殖した個体を用いた。

まず発根培地の固化剤や支持体を変えて培養を行い、発根率や根の形態を観察した。培地にはBTMに3-インドール酢酸 (IAA) を0.05ppm添加して用い、固化剤は寒天を0.4%、0.8%、1.6%および gelrite を0.2%とした。また、固化剤を用いず培地支持体としてパーミキュライトを試験管に2cm程度(層積10cc)入れ、同じ組成の液体培地を5cc及び10cc分注したのもを用いた。これらのうち、前者は液体培地をパーミキュライトが吸

収し、試験管内は空隙が多い粒状の状態、後者は液体培地の量がパーミキュライトよりも多い状態、すなわち完全な液体状態となった。発根した植物体は、パーミキュライトを用土とするポットに鉢上げし、地上部の上半分程度を切除し、葉を取り除いて順化を行った。

次に、寒天培地とパーミキュライト培地を併用し、シュート基部の周辺のみ寒天培地が存在し、その周りは水分のみを含んだパーミキュライトという状態で培養を行った。パーミキュライトは水を含ませて適当な培養容器に入れてオートクレーブで滅菌し、発根培地は前と同様の培地に寒天濃度を1.6%としてシャーレに分注し、その後オートクレーブで滅菌した。滅菌が終わった寒天培地は5mm程度の大きさに切り取り、これにシュートを挿し付けた後培地ごと先に滅菌したパーミキュライトに埋め込んだ。

3. 結果と考察

発根培地の固化剤濃度、支持体、培地量の違いによる発根率、根の形状および鉢上げ後の生存率を図-1に示した。

発根率は0.8%寒天培地で47%であったが、0.4%および1.6%寒天培地ではそれぞれ12%、22%と低い値となった。また0.2% gelrite 培地での発根率は52%であり、固化剤濃度は通常用いる濃度が最も発根に適しているように思われる。支持体をパーミキュライトとしたものでは培地10cc添加で25%、5cc添加で21%の発根率であった。

根の本数については、シュート基部から直接出た根を主根と呼び、主根から出た根を細根と呼んで区別するが、主根の数は0.2% gelrite 培地で若干多いものの培地間の差は明らかではなく、1~2本がほとんどであった。一方細根の数は、寒天培地では少なくほとんどの根が平滑であるのに対し、0.2% gelrite 培地およびパーミキュライトに培地5cc添加では細根の発生がみられ、特に培地の部分に空隙が多い後者では、ほとんどの根に細根がよく発達していた。

主根の長さは、ゲル状の培地で長く、パーミキュライト培地ではゲル状の培地に比べ半分ほどの長さであった。

これらの個体の順化については、鉢上げ後10日毎に生存本数を数え、経過日数による培地毎の生存率を示したが、全培地とも鉢上げ後早い時点から枯死が見られ、30日後までの生存率は全体で6.8%とかなり低い値であった。その中で培地5cc添加のパーミキュライトで発根したものの生存率が最も高く、30日後の生存率は22.2%であった。30日後に生存している個体は、切除した葉の付け根から腋芽が伸長しており、根が活着したものだと思われた。

以上のことから、発根に及ぼす培地の物理性については、根の発生や伸長には、根に接する面積が大きいゲル状の培地が効果的であるが、根と培地が接する面積が小さい空隙が多い培地では細根の発達には有効であると考えられる。また順化は、主根の数や長さより細根の発達状態に左右されると思われ、発根率の向上と細根の発達を両立させる必要があると思われる。

そこで、寒天培地をシュート基部のみに用い、その周りには培地成分を含まないパーミキュライトを用いて培養を行ったが、結果は表-1に示すとおり発根率は27%と低いが細根がよく発達した個体が得られた。これらの個体の順化は、パーミキュライトが培地成分を含んでいないため、寒天培地を取り除くのみで植え替えの必要はなく、また、この時点で根はすでに活着しているため、2、3日急激な乾燥を与えないようにすれば100%の活着が得られた。順化の際には培地片を取り除かなかつたものは、カビの発生による枯死はほとんど見られなかったものの培地片が乾燥により収縮し発根部を締め付けるため、順化の際には培地片を取り除く必要があると思われた。

本法では培地片をピンセットで取り扱うため、培地にある程度の硬さが必要であり寒天濃度を1.6%としたが、発根率の向上は寒天濃度を0.8%程度まで下げることで見込まれ、技術的な検討が今後必要である。

この寒天培地をシュート基部のみに用いる方法は、人工種子の一つの過程にすぎないが、現在培養可能な樹種に対してすぐに利用可能である。今後発根率の向上を行えば、順化に有効であると同時に、発根培地への植え替えから鉢上げ、順化にいたる一連の作業が一度に行えるため、シュート培養における作業の簡略化に大いに有効であるといえる。

引用文献

- (1) 山本茂弘ほか：日林誌, 73 (3), 225~231, 1991
- (2) 山下 裕史：日林九支研論, 43, 63~64, 1990
- (3) ————：日林九支研論, 44, 79~80, 1991

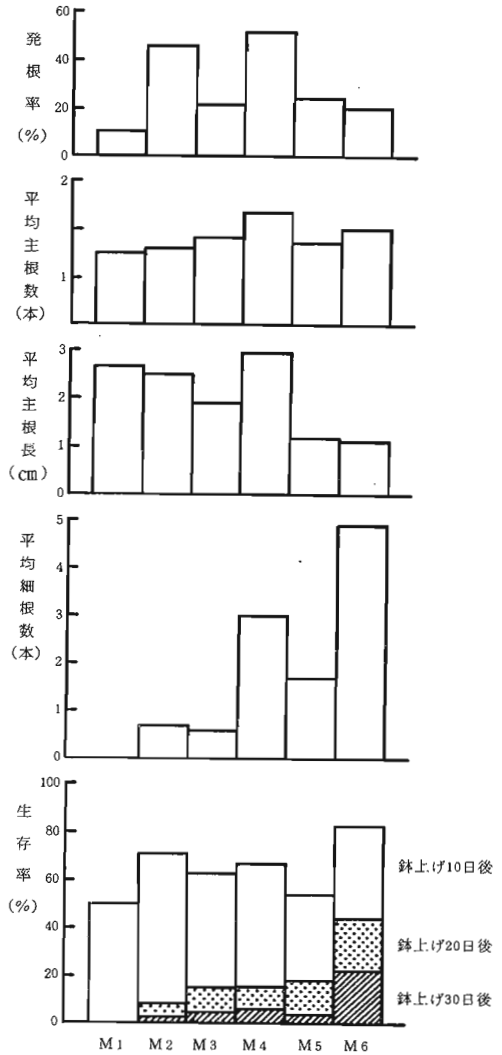


図-1 発根培地の物理性の違いによる発根率、根の形状および鉢上げ後の生存率
 (培地はBTMにIAAを0.05ppm添加し、記号はM1：寒天濃度0.4%, M2：寒天濃度0.8%, M3：寒天濃度1.6%, M4：gelrite濃度0.2%, M5：パーミキュライトに液体培地を10cc, M6：パーミキュライトに液体培地を5ccとした。)

表-1 寒天培地とパーミキュライトの併用による発根率、根の形状及び順化率

	発根率 (%)	主根数 (本)	主根長 (cm)	細根数 (本)	順化率 (%)
平均	26.7	1.6	2.2	7.6	100