

クヌギの薬培養による不定胚形成

九州東海大学農学部 香西 護・戸田 義宏

1. はじめに

クヌギ (*Quercus acutissima*) は、接ぎ木や挿し木といった栄養繁殖が困難なため、一般に種子繁殖が行われている。しかし、種子の量が限られていることや変異が生じることなどの問題があり、近年では組織培養技術を導入してのクローン増殖が試みられている。

組織培養による増殖は、腋芽や種子を各種サイトカニン添加培地で培養しマルチプルシュートを発生させ発根させる方法^{1,7)} と不定胚から固体を再生する二方法がある。後者に関しては、1988年に原口²⁾ は子葉切片から、Sasaki ら⁸⁾ が胚軸から不定胚を誘導し、植物体を再生している。

従来、半数体の迅速な作出法として薬培養が行われてきた。また、一方タバコやその他の作物では、薬や花粉を起源として不定胚が誘導されている⁹⁾。ブナ科樹木では、1988年 Jørgensen³⁾ が *Quercus petraea* の薬培養を行い不定胚を誘導しているが、クヌギをはじめその他のブナ化樹木ではまだ薬培養による不定胚作出に関する報告は見当たらない。そこで、本実験はクヌギの薬培養を試み、不定胚の誘導に成功したので報告する。

2. 材料および方法

本実験に供したクヌギは、1991年4月10日に阿蘇外輪山の自然林で開花した雄花(図-1)を用いた。殺菌は、雄花を70%エチルアルコールで1分間、ツイーン20を滴下した3%アンチホルミン液で、スターラーを用い回転しながら20分間殺菌を行った。その後クリーンベンチ内で滅菌水で3回洗浄し、薬を摘出し8個ずつ培地に置床した。培養は、MS培地⁹⁾ を基本培地に6-benzylamino purine (BA) を0, 1.0, 2.0mg/l と、1-naphthaleneacetic acid (NAA) を0, 0.2, 0.5mg/l をそれぞれ組合わせた寒天培地とした。培地は寒天7g/l, ショ糖30g/l とし、pH5.8に調整した。

培養条件は、25±2°C, 3000Lux, 16時間日長とした。また、花粉のステージを確認するため、薬をエタ

ノール・酢酸(3:1)で固定し、なすりつけ法を行い、塩酸カーミンで染色して花粉母細胞の観察を行った。

3. 結果と検討

培養前に採取した薬の花粉母細胞のステージを観察した結果、第二分裂の四分子期の状態であった(図-2)。これらの薬を培養した結果(表-1)置床後、数日でほとんどの薬が褐変しはじめ、枯死したように見えたが、4ヶ月後にB, E, G区で不定胚の形成がみられた。不定胚は、黄白色で艶のある粒状であり、外見上カルスを經由することなく形成された(図-3)。これらの不定胚は、さらに培養し続けると組織が緑化し始めた。筆者らは、先に雄花の培養⁹⁾ から不定胚の誘導に成功しているが、この場合の不定胚の起源も花粉を含む薬組織であったと思われる。

今回、薬培養により不定胚を誘導できることがあきらかとなったが、不定胚の誘導率が極めて低かったため最適なホルモン条件を指摘するまでには至らなかった。これらの原因としては、花粉のステージなどの問題が考えられ、基礎的な技術の検討が必要である。また、薬組織から誘導した不定胚は、半数性であることも考えられる。こうした方法により半数体の作出が可能となれば育種の意義が極めて大きいことから今後、染色体や形態的、組織学的観察が必要である。

引用文献

- (1) 玉泉幸一郎：98回日林九支研論，455～456，1987
- (2) 原口雅人：日林誌，70，411～416，1988
- (3) Jørgensen, J. : J. plant physiol. 132, 638～640, 1988
- (4) 香西 護・戸田義宏：101回日林九支研論，479～480，1990
- (5) MURASHIGE, T. & SKOOG, S. Physiol. Plant. 15, 437～497, 1962
- (6) 中田和男・田中正雄：J. J. Genetics, 43, 65～71, 1968
- (7) 中沢慶久・戸田義宏：林木の育種，142, 20～22, 1987
- (8) SASAKI, Y. et al. J. Fac. Agr. Kyusyu Univ. 33, 95～101, 1988



図-1 クヌギの雄花

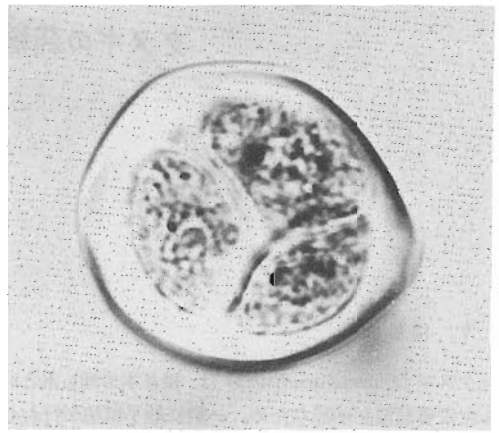


図-2 採取時期の花粉母細胞（四分子期）

表-1 クヌギの薬培養の結果

| 培地 No. | NAA (mg/ℓ) | BA (mg/ℓ) | 培養数 | 雑菌汚染数 | 褐変数 | 不定胚形成数 |
|--------|------------|-----------|-----|-------|-----|--------|
| A | 0 | 0 | 10 | 1 | 9 | 0 |
| B | 0 | 1.0 | 10 | 0 | 9 | 1 |
| C | 0 | 2.0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| D | 0.2 | 0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| E | 0.2 | 1.0 | 10 | 1 | 9 | 1 |
| F | 0.2 | 2.0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| G | 0.5 | 0 | 10 | 0 | 9 | 1 |
| H | 0.5 | 1.0 | 10 | 0 | 10 | 0 |
| I | 0.5 | 2.0 | 10 | 1 | 10 | 0 |

※4ヶ月後

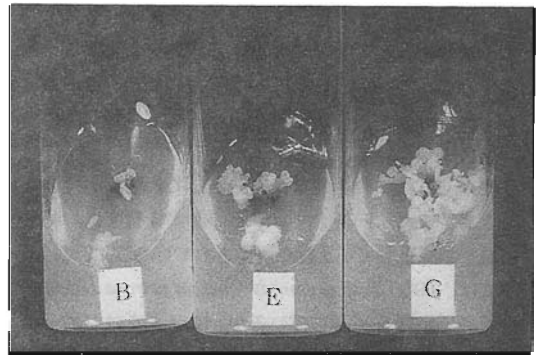


図-3 薬培養で生じた不定胚