

林木の組織培養に関する研究 (VIII)

— クヌギ培養シュートおよび二次不定胚増殖における新サイトカニンTG-19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
三菱ガス化学新潟研究所 丸山 岳人

1. はじめに

クヌギの継代培養においてシュートを大量に増殖する際には、植物ホルモンであるサイトカイニンの添加が重要であり、その種類および濃度は大きな影響を及ぼすとされている⁷⁾。

TG-19は近年開発された新しいサイトカニンであり、既存のサイトカニンとは異なった特性を有することが報告されている^{2-6, 9)}。そこで、TG-19を用いたクヌギ培養シュートおよび二次不定胚増殖における影響を調べてみた。

TG-19のサンプル入手にあたり便宜をはかっていただいた三菱ガス化学(株)・生物化学開発部の古島昌和氏に感謝の意を表する。

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木からの種苗増殖技術の開発」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および二次不定胚を用いた。

基本培地はWPM¹⁾で、培地支持剤にはゼラライト(3g/ℓ)を用い、シュークロース濃度はシュート増殖

では10g/ℓ、二次不定胚増殖では50g/ℓとした。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。培養期間は8週間であった。

実験計画は表-1に示すように実験I～Vの5つに区分した。本実験に用いたTG-19は化学名がN-(2-(N⁶-メトキシ-N-メチルアミノ)エチル)アデニン、分子式はC₁₀H₁₄N₆O、分子量は222.3、融点は170～171℃、溶解度は9.9(g/100gH₂O, 20℃)である。

3. 結果

実験-Iにおける結果は表-2に示した。シュート数及びシュート長について分散分析を行ったところシュート数では有意性が認められたが、シュート長は有意でなかった。シュート数においてはTG-19の0.1mg/ℓ区の発生数が最も多かった。

実験-IIにおける結果は表-3に示した。分散分析を行ったところシュート数のみ有意性があり、高濃度区ほど発生数が増加する傾向が認められた。シュート伸長は0.01mg/ℓ区でやや不良になるようであった。

実験-IIIの結果は表-4に示した。シュート数はTG-19の単独区およびBAP+TG-19の併用区が他の2区よりも多かった。シュート伸長はBAP単独区が良好であった。シュート数、シュート長ともにBAP+TG-19の併用処理の効果は認められなかった。

二次不定胚増殖におけるTG-19添加濃度およびBAPの影響は表-5に示した。TG-19の3区ともにBAP区よりも増殖が促進されることが判明した。TG-19の3区内では高濃度区でやや抑制される傾向が認められた。

実験-Vにおける二次不定胚増殖の結果は表-6に示した。平均値間に有意差はなかったが、TG-19の1mg/ℓ区で増殖が促進される傾向が認められた。BAP+TG-19の併用処理効果はなかった。

表-1 実験計画

| 実験 | 要因 | 水 準 | | | | 備 考 |
|-----|--------------|-------------|--------------|------------|------|---------|
| I | TG-19 BAP | 0.025, — | 0.05, — | 0.1 0.1 | mg/ℓ | シュート増殖 |
| II | TG-19 | 0.01, | 0.02, | 0.05, 0.1 | mg/ℓ | シュート増殖 |
| III | BAP TG-19 | 0, 0, | 0.05 0.05 | | mg/ℓ | シュート増殖 |
| IV | TG-19 BAP | 0.1, — | 1, 1, | 10 — | mg/ℓ | 二次不定胚増殖 |
| V | BAP TG-19 | 0, 0, | 1, 1, | | mg/ℓ | 二次不定胚増殖 |

Yoshinori SASAKI (Ooita Pref. Forest Exp. Stn., Hita, Ooita 877-13), Yukihiro SHOYAMA (Fac. Pharm. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka 812) and Taketo MARUYAMA (Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc., Niigata Research Laboratory, Niigata 950-31) Studies on tissue culture of forest trees (VIII) Effects of TG-19, a new cytokinin, on shoot and secondary somatic embryo propagation of *Quercus acutissima*

4. 考 察

TG-19は折谷にら⁹⁾によって近年開発された新規合成サイトカイニンであり、従来の合成サイトカイニンが水に難溶性であるのに対し、高い水溶性を有することが特徴的である。このため、イネ葉片の葉緑素保持試験、ダイズカサの成長試験などにおいて、天然サイトカイニンであるゼアチンや合成サイトカイニンであるBAPと同程度、あるいはそれ以上の活性を示すことが報告されている^{2-6,9)}。

クヌギ培養シュートの発生および伸長における影響を調べた結果、0.1mg/ℓの濃度で比較した場合、TG-19はBAPに比べて著しくシュート発生を促進することが判明した。またTG-19の添加濃度別では高濃度区ほどシュート数が増加するが、シュート伸長はほとんど抑制されない傾向が認められた。前報⁹⁾のBAP濃度別試験では高濃度区ほどシュート数が増加するが、シュート伸長は抑制されることを指摘したが、TG-19の場合、今回の実験濃度の範囲内ではこのようなことはなく、きわめて興味深い現象と考えられる。二次不定胚増殖においてもTG-19はBAPよりも促進することが判明した。これらの結果から総合的に見ると、TG-19はBAPより活性が高く、クヌギの組織培養において極めて効果的なサイトカイニンと考えられる。

引用文献

(1) LLOYD, G. et al. : Comb.Proc. Int. Plant Propagator's Soc., 30, 421~427, 1980

(2) 丸山岳人ほか：日作紀（別号2），58，219~220，1989
 (3) 小田晃規ほか：植物化学調節学会・平成元年度大会研究発表記録集，81~82，1989
 (4) 折谷隆志ほか：日作紀（別号2），57，205~206，1988
 (5) —————：日作紀（別号1），58，172~173，1989
 (6) —————ほか：日作紀（別号1），59，104~105，1990
 (7) 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
 (8) 佐々木義則ほか：日林九支研論，41，63~64，1988
 (9) 竹内安智ほか：植物化学調節学会・平成元年度大会研究発表記録集，83~84，1989

表-2 培養シュートの発生および伸長におけるTG-19, BAPの影響 (実験-I)

| サイトカイニン | 濃度 mg/ℓ | シュート数 | | | シュート長 | | |
|---------|------------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| | | N | M.V. | S.D. | N. | M.V. | S.D. |
| | | 株 | 本/株 | | 本 | cm/本 | |
| TG-19 | 0.025 | 24 | 2.96a | 1.59 | 71 | 1.48a | 0.82 |
| TG-19 | 0.05 | 26 | 3.27a | 1.97 | 85 | 1.64a | 0.87 |
| TG-19 | 0.1 | 27 | 4.81b | 2.37 | 130 | 1.63a | 0.83 |
| BAP | 0.1 | 23 | 2.57a | 1.31 | 59 | 1.76a | 1.21 |

(注-1) N: 測定数 M.V.: 平均値 S.D.: 標準偏差を示す
 (注-2) 平均値間の有意差検定: 同文字間では5%以下の水準で有意差がなく、異文字間では5%以下の水準で有意差があることを示す (以下の表においても同様)

表-3 培養シュートの発生および伸長におけるTG-19添加濃度の影響 (実験-II)

| TG-19 添加濃度 mg/ℓ | シュート数 | | | シュート長 | | |
|-----------------------|-------|--------|------|-------|-------|------|
| | N | M.V. | S.D. | N | M.V. | S.D. |
| | 株 | 本/株 | | 本 | cm/本 | |
| 0.01 | 26 | 1.77a | 0.89 | 46 | 1.26a | 0.67 |
| 0.02 | 28 | 2.29ab | 1.09 | 64 | 1.49a | 0.76 |
| 0.05 | 25 | 2.76bc | 1.24 | 69 | 1.46a | 0.84 |
| 0.1 | 25 | 3.24c | 1.36 | 81 | 1.48a | 0.85 |

表-4 培養シュートの発生および伸長におけるBAPとTG-19の組合わせの影響 (実験-III)

| BAP | TG-19 mg/ℓ | シュート数 | | | シュート長 | | |
|------|---------------|-------|-------|------|-------|-------|------|
| | | N | M.V. | S.D. | N | M.V. | S.D. |
| | | 株 | 本/株 | | 本 | cm/本 | |
| 0 | 0 | 116 | 1.16a | 0.40 | 135 | 1.63a | 0.73 |
| 0 | 0.05 | 115 | 2.43b | 1.33 | 279 | 1.99b | 1.29 |
| 0.05 | 0 | 125 | 1.40a | 0.73 | 175 | 2.42c | 1.62 |
| 0.05 | 0.05 | 121 | 2.69b | 1.71 | 325 | 2.04b | 1.30 |

表-5 二次不定胚増殖におけるTG-19, BAPの影響 (実験-IV)

| サイカイニン | 濃度 mg/ℓ | N. | | S.D. |
|--------|------------|-----|--------|-------|
| | | 本 | N.V. | |
| | | g/本 | | |
| TG-19 | 0.1 | 35 | 3.117a | 1.345 |
| TG-19 | 1 | 35 | 3.261a | 1.418 |
| TG-19 | 10 | 35 | 2.737a | 0.852 |
| BAP | 1 | 35 | 2.011b | 0.955 |

表-6 二次不定胚増殖におけるBAPとTG-19の組合わせの影響 (実験-V)

| BAP | TG-19 mg/ℓ | N | | S.D. |
|-----|---------------|-----|--------|-------|
| | | 本 | N.V. | |
| | | g/本 | | |
| 0 | 0 | 38 | 2.683a | 1.118 |
| 0 | 1 | 38 | 3.515a | 1.483 |
| 1 | 0 | 38 | 2.956a | 1.261 |
| 1 | 1 | 38 | 2.989a | 1.451 |