

林木の組織培養に関する研究 (IX)

— クヌギ培養シュートおよび二次不定胚増殖におけるオリゴ糖の影響 —

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

糖類は単糖類, 少糖類, 多糖類の3種類に分けられる。少糖類はさらに2糖類と3~6糖類の2種類に分けられ, 後者が狭義のオリゴ糖と呼ばれている¹⁾。オリゴ糖は健康食品の一つとして近年脚光をあびており²⁾, 植物においても増殖, 分化に影響があることが報告されている³⁻⁴⁾。そこで, クヌギの組織培養におけるオリゴ糖の影響を調べてみた。

大豆オリゴ糖を提供していただいたカルピス研究開発センターの古閑安氏に感謝の意を表す。

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WPM⁵⁾で, 培地支持剤にはゼライト(3g/ℓ)を用い, BAPはシュート増殖では0.1mg/ℓ, 二次不定胚増殖では1mg/ℓとした。シュークロース濃度はシュート増殖では5g/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に示した。実験-Ⅲおよび実験-Ⅳにおけるオリゴ糖(粉末)の添加量は5g/ℓとしたが, イソマルトオリゴ糖(濃縮液)のみ6.67g/ℓとした。主要なオリゴ糖類の含有率は未精製大豆オリゴ糖(試供品)ではスタキオース21.9%, ラフィノース7.4%, 精製大豆オリゴ糖(試供品)はスタキオース70.6%, ラフィノース19.8%, フラクトオリゴ糖(市販品)は1-kestose 35%, Nystose 50%, イソマルトオリゴ糖(市販品)ではパノース12.5%, イソマルトトリオース3.4%, 分岐糖類52.0%である。

3. 結果

シュート増殖における未精製大豆オリゴ糖の添加濃度別実験の結果は表-2, 表-3に示した。シュート数およびシュート長ともに処理間に有意差はなかったが, シュート長においては2~5g/ℓ区で伸長が促進され, 高濃度区では伸長が抑制される傾向が認められた。

大豆オリゴ糖の種類別実験の結果は表-4に示した。シュート数, シュート長ともに処理間に有意差はなかったが, オリゴ糖区が無添加区に比べてやや促進される傾向が認められた。

オリゴ糖の種類別実験の結果は表-5に示した。シュート数においては処理間に有意差はなかったが, シュート長では有意差が認められた。3種類のオリゴ糖の中では, 大豆オリゴ糖区のシュート伸長が良好であった。

二次不定胚増殖における未精製大豆オリゴ糖等の添加濃度別実験の結果は表-6に示した。処理間に有意差はなかったが, 2~5g/ℓ区で増殖が促進され, 10g/ℓ区ではやや抑制される傾向が認められた。

表-1 実験計画

実験	要因	水準	備考
I	大豆オリゴ糖(未精製)	0, 5, 10, 20, g/ℓ	シュート増殖
II	大豆オリゴ糖(未精製)	0, 2, 5, 10, g/ℓ	シュート増殖
III	大豆オリゴ糖の種類	未精製, 精製, 対照	シュート増殖
IV	オリゴ糖の種類	大豆オリゴ糖(未精製), フラクトオリゴ糖, イソマルトオリゴ糖, 対照	シュート増殖
V	大豆オリゴ糖(未精製)	0, 2, 5, 10, g/ℓ	二次不定胚増殖

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 (IX) Effects of oligosaccharides on shoot and secondary somatic embryo propagation of *Quercus acutissima*

4. 考察

オリゴ糖類が植物に及ぼす影響については、石原ら⁴⁾がキシロオリゴ糖の成長および発根促進効果、平野⁵⁾および内田⁶⁾はキチンオリゴ糖、キトサンオリゴ糖の抗菌活性、植物の成長や分化の促進など幅広い効果があること、筆者⁷⁾は培養苗の順化時におけるキチンオリゴ糖、キトサンオリゴ糖使用による生存率の向上、さらに、ALBERSHELM et al.⁸⁾はオリゴサッカリン、林⁹⁾はオリゴサッカロイドの広範な効果に言及している。大豆オリゴ糖、フラクトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖はいずれも植物由来のオリゴ糖であるが、これらを組織培養に使用した報告は見当たらない。

筆者らは今回、植物由来のオリゴ糖を用い、クヌギの培養シュートおよび二次不定胚増殖に及ぼす影響を調べてみた。その結果、未精製大豆オリゴ等は2~5g/ℓ添加でシュートの伸長を促進するが、20g/ℓの高濃度区では反対に伸長を抑制する傾向が認められた。大豆オリゴ糖、フラクトオリゴ糖、イソマルトオリゴ糖の3種類におけるシュート伸長は対照区に比べて促進される傾向が認められ、中でも大豆オリゴ糖の伸長促進効果が大きかった。二次不定胚増殖においても2~5g/ℓ区で促進されるが、10g/ℓ区ではやや抑制されるようであった。以上の結果から、クヌギの組織培養においてもオリゴ糖添加が有効であり、大豆オリゴ等の場合、2~5g/ℓの濃度が効果的と考えられる。今回用いた糖類は種々のオリゴ糖を含んでおり、どのオリゴ糖が影響を及ぼすかは不明であるため、単一オリゴ等を使用しての検討も必要と考えられる。

表-3 大豆オリゴ糖（未精製）の添加濃度がシュート増殖におよぼす影響（実験-II）

添加濃度 g/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	19	1.32a	0.67	25	1.97a	1.03
2	17	1.65a	1.06	28	2.34a	1.61
5	19	1.47a	0.70	28	2.20a	1.16
10	18	1.56a	0.70	28	1.82a	1.23

表-5 オリゴ糖の種類がシュート増殖におよぼす影響（実験-IV）

オリゴ糖の種類	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	
大豆オリゴ糖	23	1.22a	0.52	28	2.64a	1.73
フラクトオリゴ糖	23	1.22a	0.42	28	2.18ab	1.54
イソマルトオリゴ糖	26	1.12a	0.33	29	2.05ab	1.54
対 照	24	1.29a	0.46	31	1.46b	0.97

(注) 大豆オリゴ糖は未精製のものを使用した

引用文献

- (1) ALBERSHEIM, P. et al.: Sci. Am., 253, 44~52, 1985
- (2) 林隆久: 化学と生物, 29 (3), 150~159, 1991
- (3) 平野茂博: 最後のバイオマス, キチン・キトサン, 169~188, 枝報堂出版, 東京, 1988
- (4) 石原光朗ほか: 41回日本木材学会研究発表要旨集, 315~316, 1991
- (5) 小林恒夫: 生体成分の化学, pp. 293, 養賢堂, 東京, 1982
- (6) LLOYD, G. et al.: Comb. Proc. Int. Plant Propagator's Soc., 30, 421~427, 1980
- (7) 正井輝久: 食品工業, 30 (16), 1~9, 1987
- (8) 佐々木義則: 大分林試年報, 33, 印刷中, 1991
- (9) 内田泰: キチン, キトサンの応用, 71~98, 枝報堂出版, 東京, 1990

表-2 大豆オリゴ糖（未精製）の添加濃度がシュート増殖におよぼす影響（実験-I）

添加濃度 g/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	31	1.61a	0.84	50	1.74a	1.13
5	37	1.54a	0.96	57	2.18a	1.67
10	34	1.74a	0.90	59	2.04a	1.50
20	34	2.00a	1.48	68	1.75a	1.34

(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。(以下同様)

表-4 大豆オリゴ糖の種類がシュート増殖におよぼす影響（実験-III）

大豆オリゴ糖の種類	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	
未精製オリゴ糖	24	1.21a	0.59	29	1.63a	0.98
精製オリゴ糖	24	1.42a	0.72	34	1.54a	1.14
対 照	24	1.08a	0.28	26	1.12a	0.49

表-6 大豆オリゴ糖（未精製）の添加濃度が二次不定胚増殖におよぼす影響（実験-V）

添加濃度 g/ℓ	N.	M.V.	S.D.
	本	g/本	
0	9	1.234a	0.880
2	9	2.975a	1.748
5	9	2.629a	1.714
10	9	1.960a	1.335