

ミズメの腋芽を用いた組織培養

— CO₂ 施用の試みについて —

宮崎県林業総合センター 三樹陽一郎

1. はじめに

ミズメは材質に優れ、主に家具材として利用されているが、県内におけるその原木は著しく減少しており、今後、育種および増殖が期待されている有用広葉樹の一つである。

一方、林木の組織培養法のうち炭素源の供給に関しては、気相中の CO₂ より培地中の糖類に依存している報告例が多い^{2,3)} が、CO₂ 濃度の制御は、培養小植物体を環境ストレスに強くする方法の一つとして考えられ、順化の期間短縮や生存率の向上などへの期待が持たれている³⁾。

そこで、ミズメの腋芽を含む外植体が個体再生されるまで、炭素源の依存度を気相中の CO₂ に高める可能性について基礎的資料を得るため、インキュベータ内の CO₂ 濃度を高くし、Sucrose を低濃度にした培地を使ってシュート伸長および発根率の調査をおこなったので報告する。

2. 材料および方法

3年生ミズメ苗木を室内で育成し、新梢を節ごとに切り分け、葉柄を残したまま葉身を切り外した腋芽を含む小片(20mm前後)を外植体とした。表面殺菌処理は70%エチルアルコール液で1分間、有効塩素1%次亜塩素酸ナトリウム溶液で5分間攪拌しながら殺菌し、滅菌水で洗浄した。

次に、シュート形成と発根を促すため、培養による前処理をおこなった。基本培地はWPM[®]で、これにNAA0.2mg/l、2%濃度のSucrose、ゲランガム2g/lを加え、培養温度25℃、照度5,000lux、16時間日長で14日間培養した。

前処理後、コンタミが認められなかった外植体をCO₂ 施用の実験用培地に移植した。培地にはホルモンフリーのWPM培地を使用、Sucrose濃度を0.5%と1.0%の2水準とし、培地支持剤にはゲランガム2g/lを加えた。培養器は、φ30×200mmの試験管を使用し、

外植体を移植してアルミホイルで栓をした。

インキュベータは2台使用した。1台(日本医科器械製作所、NC-220)はCO₂濃度を1500±100ppmで設定(以下、この処理をCO₂施用区)し、もう1台(同社、LPH300)は対照区用として気相条件をなりゆきとした(以下、CO₂無施用区)。どちらも、インキュベータのプログラム設定を温度25℃、照度10klux、明期16時間、暗期8時間として培養した。

3. 結果

前処理14日目は、コンタミが2%で、生存しているすべての腋芽から葉が2枚ずつ展開し始めていた。シュートの伸長は本処理の培養開始7日目頃からCO₂施用区、無施用区ともに確認され、15日目にはシュート形成率は100%になった。培養経過42日後のシュートの伸長状況を表-1に示した。Sucrose濃度0.5%区では、CO₂無施用区のシュート平均伸長が14.4mmであるのに対して、CO₂施用区は27.9mmと約2倍の伸長を示した(写真-1)。また、Sucrose濃度1.0%区では、CO₂無施用区が18.5mmの平均伸長に対し、CO₂施用区は29.6mmと良好な伸長を示した(写真-2)。分散分析をした結果、Sucrose濃度0.5%区および1.0%区のいずれもCO₂施用区とCO₂無施用区とで1%水準で有意差が認められた。Sucrose濃度0.5%区と1.0%区とでは有意でなかったが、1.0%区のほうが伸長する傾向を示した。

発根は、早いものでは本試験開始日直後に確認できた。培養経過42日後の発根率の状況を図-1に示した。発根率は、Sucrose濃度0.5%区および1.0%区ともCO₂無施用区に対してCO₂施用区のほうが高い値を示した。

4. 考察

本試験において、CO₂施用区は無施用区に対してシュート伸長と発根率に良好な影響が認められた。これは、明期における無施用区の培養小植物体は、培養器内のCO₂濃度が低下し、光合成能力を十分に発揮でき

ない状態にある¹⁾ため、生長が抑制されたが、CO₂施用区では、純光合成速度の増加が可能となり、結果として、シュート伸長および発根率に効果が表われたと推測される。また、CO₂施用区では、Sucroseが0.5%の低濃度でもシュートは良好に伸長する傾向を示した。このことは、培養中のコンタミによる損失の減少、混合栄養生長から独立栄養生長への移行促進などに期待できると考えられる。

ミズメの組織培養においては、CO₂施用の効果を利用できる可能性が認められたため、今後、CO₂施用での培地、光、培養器および栓などについて検討していく必要がある。

表-1 CO₂施用42日後のシュート伸長に及ぼす影響

Sucrose 濃度 (%)	CO ₂	供試本数 (本)	残存本数 (本)	最小値 (mm)	最大値 (mm)	平均値 (mm/本)	標準偏差
0.5%区	施用区	15	14	18	44	27.9	7.18
	無施用区	15	14	11	19	14.4**	2.62
1.0%区	施用区	15	15	17	46	29.6	7.82
	無施用区	15	15	11	26	18.5**	5.30

**は1%水準で有意

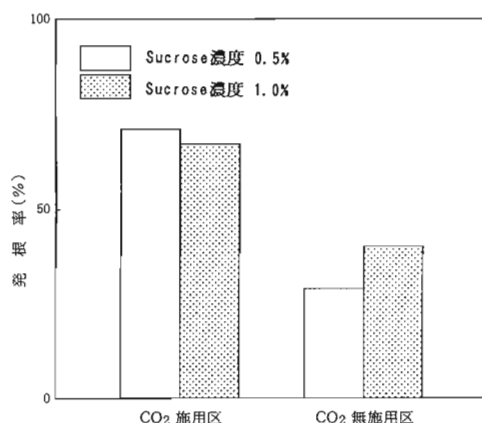


図-1 CO₂施用42日後の発根率

引用文献

- (1) 富士原和宏ほか：農業気象, 43(1), 21~30, 1987
- (2) IDE, Y.: J. Jpn. For. Soc. 69,161~163,1987
- (3) 古在豊樹ほか：遺伝, 46(4), 32~36, 1992
- (4) LLOYD, G. et al: Comb. Proc. Int. Plant. Soc., 30, 421~427, 1980
- (5) 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，農業図書，東京，1989

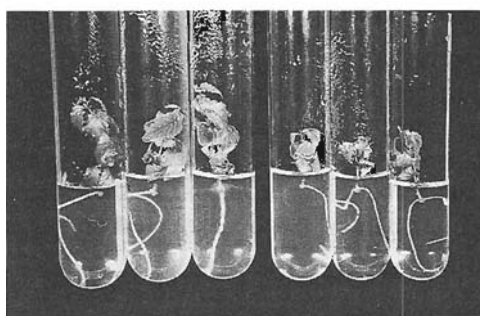


写真-1 Sucrose濃度0.5%培地におけるミズメ小植物体
左3本：CO₂施用区，右3本：CO₂無施用区

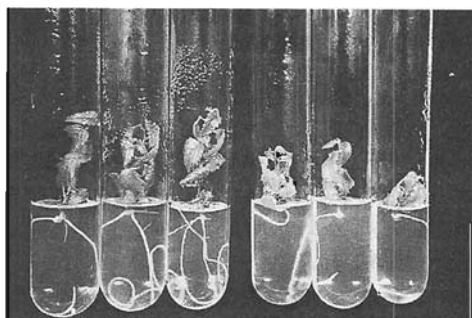


写真-2 Sucrose濃度1.0%培地におけるミズメ小植物体
左3本：CO₂施用区，右3本：CO₂無施用区