

## 林木の組織培養に関する研究 (XIII)

### — クヌギ組織培養における硝酸アンモニアとホウ酸およびビタミン組成の影響 —

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

初代培養より無菌シュートを得た後、多数の幼植物体を再生するためには継代培養によりシュートを大量に増やしておく必要がある。このためには培地の組成および濃度などの詳細な条件設定が重要となる。このようなことから、筆者らは各種基本培地（無機塩）およびWPMの無機塩濃度が培養シュートの増殖に及ぼす影響を調べ報告した<sup>4,5)</sup>。

今回、硝酸アンモニアとホウ酸の組み合わせ、および各種基本培地で使用されているビタミン組成がシュート増殖に及ぼす影響を調べた。

本研究は地域バイオテクノロジー研究開発促進事業「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

実験材料には精英樹由来の実生個体の新梢腋芽を外植体とし、継代培養中のシュートを用いた。

$\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{H}_3\text{BO}_3$  の組み合わせ実験における処理区 (A~D) は表-1に示した。ビタミン組成別実験における添加ビタミンの種類および濃度 (I~VII) は表-2に示した。

両実験ともに基本培地（無機塩）はWPM<sup>2)</sup>、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10g/L、BAPは0.1mg/Lとした。培養環境条件は25 ± 1 °C、4,000ルクス、明期16時間、暗期8時間とした。 $\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{H}_3\text{BO}_3$

表-1  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  と  $\text{H}_3\text{BO}_3$  の組み合わせ

処理区	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{H}_3\text{BO}_3$
A	基準量(400mg/L)	半量(3.1mg/L)
B	基準量(400mg/L)	基準量(6.2mg/L)
C	二倍量(800mg/L)	半量(3.1mg/L)
D	二倍量(800mg/L)	基準量(6.2mg/L)

$\text{BO}_3$  の添加実験においては5クローンを使用し、1区あたりの植え込み数は10~40本とした。ビタミン組成別実験では1クローンを用い、1区あたり30~36本植え込んだ。培養期間は両実験ともに8週間であった。

#### 3. 結果

$\text{NH}_4\text{NO}_3$  濃度と  $\text{H}_3\text{BO}_3$  濃度の組み合わせが培養シュートの発生および伸長に及ぼす影響は表-3に示した。処理区別のシュート数はクローンによって反応が異なったが、全般的にみるとAおよびB区はCおよびD区より発生数が多かった。処理区別のシュート長もクローンによる差異が認められたが、全般的にみるとC区の伸長が最も旺盛であり、次いでD区が良好であった。AおよびB区はCおよびD区に比べて伸長が不良であった。

ビタミン組成が培養シュートの発生および伸長に及ぼす影響は表-4に示した。シュート数においては処理間に統計的な有意差はなかったが、I、V、VIの培地で発生が多い傾向が認められた。シュート長においても処理間に有意差はなかったが、Iの培地で伸長が促進される傾向が認められた。Iの培地ではシュートの発生、伸長ともに良好であった。

表-2 各種培地におけるビタミン組成

ビタミン(mg/L)	I	II	III	IV	V	VI	VII
Biotin	-	-	-	-	0.05	-	-
Folic Acid	-	-	-	-	0.5	-	-
Glycine	2.0	-	-	2.0	2.0	-	2.0
myo-Inositol	-	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Nicotinic Acid	0.5	1.0	-	0.5	5.0	5.0	0.5
Pyridoxine·HCL	0.5	1.0	-	0.5	0.5	0.5	0.5
Thiamine·HCL	0.5	10.0	0.4	0.1	0.5	5.0	1.0

(注) I : ERIKSSON (1965), II : GANBORG (1968), III : LINSMAIER and SKOOG (1965), IV : MURASHIGE and SKOOG (1962), V : NITSCH and NITSCH (1969), VI : SCHENK and HILDEBRANDT (1972), VII : LOYD and McCOWN (1981)  
I~VIIの引用文献への記載は省略。

Yoshinori SASAKI (Ooita Pref. Forest Exp. Stn., Hita, Ooita, 877 - 13) and Yukihiko SHOYAMA (Fac. Pharm. Sci., Kyushu Univ., Fukuoka 812)

Studies on tissue culture of forest trees (XIII), Effects of ammonium nitrate-boric acid combination and vitamine composition on tissue culture of *Quercus acutissima*.

4. 考 察

クヌギ、コナラなどの組織培養においてはWPM<sup>2)</sup>などの培地がよく使用されている。WPMは植物全般で広く使用されているMS培地<sup>3)</sup>などに比べて無機塩濃度が低いことが特徴的である。筆者らはクヌギの組織培養において基本培地(22種類)別の増殖能力を検討した結果、WPMなどが優れており、さらにWPMの構成無機塩(10種類)の個々の濃度を調べたところ、硝酸アンモニアおよびホウ酸の影響が大きいことを報告した<sup>4,5)</sup>。

今回、前報<sup>4,5)</sup>の結果をもとに、より詳細な培地条件を検討するため、硝酸アンモニア濃度(基準量, 二倍量)とホウ酸濃度(半量, 基準量)の組み合わせ、および各種基本培地で使用されているビタミン組成が培養に及ぼす影響を調べた。その結果、硝酸アンモニアおよびホウ酸の影響を単独的にみた場合、前者のほうが効果が大きい傾向が認められた。両者の組み合わせ効果を調べてみると、シュート発生数では、硝酸アンモニアの基準量区の場合、ホウ酸濃度の影響は小さかったが、硝酸アンモニアの二倍量区においてはホウ酸の半量区のほうがシュート数が多い傾向が認められた。シュート伸長においても硝酸アンモニアの基準量区ではホウ酸濃度の影響は小さかったが、硝酸アンモニアの二倍量区においてはホウ酸の半量区で伸長が促進されることが判明した。これらの効果発現はクローンによって異なっていたが全般的にみると硝酸アンモニア二倍量とホウ酸半量の組み合わせがシュート増殖に適するものと考えられる。ビタミン組成の影響は処理間に有意差はなかったが、ERIKSSON<sup>1)</sup>の組成が有効である傾向が認められた。ERIKSSONの培地が他の6種類の培地と最も異なる点はmyo-Inositol(100mg/L)を全く含まないことであるが、今回の結果はmyo-Inositolの効果を再検討する必要があることを示唆しているものと考えられる。

引用文献

(1) ERIKSSON, T. : *Physiol. Plant.*, **18**, 976~984, 1965  
 (2) LLOYD, G. et al. : *Int. Plant Prop. Soc. Proc.*, **30**, 421~427, 1981  
 (3) MURASHIGE, T. et al. : *Physiol. Plant.*, **15**, 473~497, 1962

表-3 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>濃度とH<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>濃度の組合わせが培養シュートの発生及び伸長に及ぼす影響

クローン No.	処 理	シュート数 (本/株)			シュート長 (cm/本)		
		M. V.	S. D.	比数	M. V.	S. D.	比数
1	A	2.00a	0.63	91	2.58a	0.84	119
	B	2.20a	1.17	100	2.17a	1.65	100
	C	1.00a	0.00	45	4.42bc	1.31	204
	D	1.20a	0.40	55	3.08ac	1.04	142
	分散比 (F)	2.89 <sup>ks</sup>			3.31 <sup>ks</sup>		
2	A	2.70a	1.51	96	1.94a	1.13	107
	B	2.81a	1.59	100	1.81a	1.08	100
	C	2.71a	1.34	96	2.25a	1.41	124
	D	2.14a	1.39	76	1.98a	1.01	109
	分散比 (F)	0.90 <sup>ks</sup>			1.65 <sup>ks</sup>		
3	A	1.73a	0.93	78	2.80a	1.25	113
	B	2.21a	1.08	100	2.48a	1.27	100
	C	1.73a	0.77	78	3.12a	1.82	126
	D	1.85a	0.77	84	2.30a	1.28	93
	分散比 (F)	0.86 <sup>ks</sup>			1.60 <sup>ks</sup>		
4	A	3.36b	1.82	115	1.98a	1.20	94
	B	2.91ab	1.34	100	2.10a	1.21	100
	C	2.81ab	1.27	97	2.58b	1.58	123
	D	2.26a	1.50	78	2.47b	1.30	118
	分散比 (F)	3.42*			5.50**		
5	A	3.47a	1.67	105	1.85a	1.26	107
	B	3.30a	1.55	100	1.73a	1.00	100
	C	2.86a	2.03	87	2.23a	1.33	129
	D	2.43a	1.26	74	1.90a	1.22	110
	分散比 (F)	1.54 <sup>ks</sup>			1.92 <sup>ks</sup>		
全体	A	2.94bc	1.69	104	2.03ab	1.22	102
	B	2.83bc	1.43	100	1.99a	1.19	100
	C	2.55ac	1.49	90	2.50c	1.55	126
	D	2.16a	1.33	76	2.22b	1.24	112
	分散比 (F)	5.41**			8.86**		

(注) M. V. : 平均値, S. D. : 標準偏差  
 同一文字のついている平均値間では有意差 (5%水準) がないことを示す。

表-4 ビタミン組成が培養シュートの発生および伸長に及ぼす影響

培 地	シュート数 (本/株)			シュート長 (cm/本)		
	M. V.	S. D.	比数	M. V.	S. D.	比数
I	2.24a	1.24	124	2.88a	1.38	111
II	1.89a	1.35	104	2.74a	1.11	106
III	1.85a	1.03	102	2.57a	1.12	99
IV	1.71a	0.96	94	2.63a	1.28	102
V	2.10a	1.35	116	2.43a	1.11	94
VI	2.03a	1.21	112	2.41a	0.86	93
VII	1.81a	0.81	100	2.59a	1.23	100
分散比 (F)		0.95 <sup>ks</sup>			1.12 <sup>ks</sup>	

(注) M. V. : 平均値, S. D. : 標準偏差  
 同一文字のついている平均値間では有意差 (5%水準) がないことを示す。

(4) 佐々木義則ほか : 日林九支研論, **44**, 85~86, 1991

(5) \_\_\_\_\_ : \_\_\_\_\_, **45**, 61~62, 1992