

縄文アラカシの組織培養に関する研究

佐賀県林業試験場 宮崎 潤二

1. はじめに

縄文アラカシは、昭和43年に縄文時代の遺跡である坂の下遺跡（佐賀県西松浦郡西有田町）から出土した種子が約4千年ぶりに発芽したもので、樹種名はアラカシ (*Quercus gluca* Thunb) である。縄文アラカシは現在県博物館に植栽されているが、1本しか存在しない貴重な木であるため、以前から増殖が望まれていた。この縄文アラカシが平成3年から結実を始めたため、通常の播種と平行して、組織培養による増殖を試みることにした。

なお、本実験にあたり、貴重な培養材料及び資料を提供して頂きました佐賀県立博物館に感謝申し上げます。

2. 材料と方法

(1) 無菌播種

平成4年11月、縄文アラカシに結実した種子40粒を採取し本実験に供試した。種子は川砂中に低温保存し、同年12月に取りだして次の手順で滅菌し播種した。まず外果皮を取り去り、中性洗剤で10分洗浄後、70%エタノールで3分間、1%アンチホルミンで5分間滅菌し、滅菌水ですすぎ、濾紙上で風乾した。

外植体は種子を短径方向に分割したものおよび胚周辺を約5mm角のさいころ状に摘出したものの二通り用意し、培地に置床した。(以後、前者を二分割種子、後者を角切種子と呼ぶ)。培地は、BTMの鉄源をFe-EDTA5.6mg/lに改変したものにBAPを0.225~0.25mg/l、NAAを0.05mg/l、ショ糖を20g/l、寒天を8g/l添加し、pHを5.7に調整して用いた。

(2) 継代培養

(1)で得られた上胚軸は発根培養に供試したが、上胚軸を取り去った残りの株(20mm未満のシュートも含む)は、幼根を取り去り、子葉つき下胚軸部分を播種用培地と同組成の培地に移植した。

(3) 発根培養

(1)、(2)で、20mm以上に伸長した上胚軸およびシュー

トのうち、健全なものを選んで発根培養に供試した。培地はBTM培地の無機塩類のみを半量にし、これにIBAを1.28~0.203mg/l、NAAを0.05mg/l、ショ糖を20g/l、寒天を8g/l添加し、pHを5.7に調整して用いた。

(4) 順化

発根した植物体を取り出し、寒天を取り除いた後、鉢上げした。用土はパーミキュライトとパーライトを1:1で混合して用いた。用土の表面はミズゴケで覆い、その上から腰高シャーレをかぶせて乾燥を防いだ。

3. 結果と考察

(1) 無菌播種

角切種子を置床した場合、BAP2.25mg/l区では、胚が枯死して発芽しなかったものや、発芽しても正常な伸長を示さないものが多かった。後者は、幼芽が寒天培地内へ伸びてしまい、以後の伸長に異常を来していた。一方、BAP0.225mg/l区では発芽はするものの、以後の伸長はすぐに止まってしまった。また、子葉の付け根からシュートが生じ、二又あるいは三又になるものがあつた。なお、これらの上胚軸部分やシュートから生じる葉はちぢれたような形であつた。また、根には細根が全く生じなかった。

二分割種子を置床した場合、ほぼすべての種子から発芽し、活発な伸長を示したが、上胚軸以外にシュートが生じることはなかった。また、培地のBAP濃度の、発芽やその後の伸長への影響は明らかではなかった。

(2) 継代培養

角切種子から得た上胚軸を培養した場合は、新たなシュートはほとんど得られなかった。一方、二分割種子から得た子葉つき下胚軸を培養した場合、子葉基部から1~2本のシュートが生じた。これらのシュートを取り去ると、さらに複数のシュートが生じることもあり、約90日間の培養で、供試した外植体(胚軸)1つあたり平均2.2本のシュート(20mm以上)が得られた。また、BAP濃度間のシュート形成数には5%水準で差

がなく、BAP濃度との関連は明らかにできなかった。なお、一部のシュートを切りとって再度、同じ組成の培地へさし付け、シュートの増殖を試みている。

(3) 発根培養

角切種子由来の上胚軸は全く発根しなかったが、二分割種子由来の上胚軸や(2)で得られたシュートのうち、6本で発根が認められた。各IBA濃度間での発根率は、表-2に示すとおり明確な差はみられなかった。また、(2)のシュート増殖培養中に発根した例もあることから、IBAは発根に必須ではない可能性もあると思われる。

(4) 順化

順化開始から2週間程度は、腰高シャーレで覆った内部を過湿に保ち、その後は徐々に外気に馴らしていった。供試した7株のうち2株はカビにより順化途中で枯死したが、残り5株は葉の一部が枯れ落ちたものの、数週間後には活着し伸長を再開した。

4. おわりに

本実験により、短径方向に二分割した種子を外植体とし、これをBAPを含む改変BTMで培養することで

上胚軸およびシュートを誘導し、さらにIBAを含む1/2改変BTMで発根させることにより、幼植物体を再生することができた。

しかし、供試した種子1個あたり、最終的に得られた幼植物体数は0.31本/個であり、増殖率が低いことが最大の問題点である。これは、種子1個から得られるシュートの少なさが原因として挙げられるが、これを改善するには、上胚軸やシュートの脇芽からさらに複数のシュートを誘導する培養系を確立する必要があると思われる。

参考文献

- (1) 牧野富太郎：原色牧野植物図鑑，pp. 852，北隆館，東京，1982
- (2) 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
- (3) 山下裕史：クヌギ組織培養苗の環境順化，日林九支研論，43，63～64，1990

表-1 継代培養におけるシュート発生

外植体	BAP濃度 (mg/ℓ)	供試数	シュート数	種子1個当りシュート数(本)
角切種子	2.250	10	0	0.00
〃	0.225	10	0	0.00
二分割種子	2.250	8	19	2.38
〃	0.225	8	16	2.00

表-2 IBA濃度と発根率の関係

	IBA濃度 (mg/ℓ)	供試数	発根数	発根率 (%)
H-1	1.280	9	2	22.2
H-2	0.641	9	3	33.3
H-3	0.203	8	1	12.5
全体		26	6	23.1