

抵抗性クロマツの組織培養(Ⅰ)

—発根条件の検討—

福岡県森林林業技術センター 後藤 晋・宮原 文彦

1. はじめに

現在、クロマツのマツノザイセンチュウ(以下センチュウ)病抵抗性は、2年生実生苗にセンチュウを接種することにより検定している。この方法では、結果的に抵抗性がなく枯死するものについても接種しなければならず、養苗にかかる労力、検定の手間等が大きい。そこで組織培養によるクローン増殖を行えば、その一部の苗だけで検定できるので、効率的な苗木生産が可能となる。

抵抗性クロマツの組織培養については、いくつか報告^{1,2,3)}されているが、いずれも発根率が低く、苗木生産の上で大きな問題点となっている。そこで、発根率の向上を目的として実験を行った。

2. 材料と方法

材料は、福岡県小郡市の抵抗性クロマツ採種園産の種子を用いた。種子は無菌発芽させた後、上胚軸の部分を調製し、初代培養としてBAPを1, 3, 5, 10mg/l添加したLP培地にそれぞれ40本ずつ植付けた。1~2カ月間培養し腋芽を増殖させた後、活性炭5g/lを添加した1/2LP培地に移植した。1カ月後に伸長した腋芽のうち、5mm以上のものをショートとし、BAP濃度別にその発生本数を調査した。

また、継代培養におけるショート伸長について、24時間日長と16時間日長の2つの光周期条件下で培養を行い、ショートの数および伸長量を比較検討した。

発根条件に関しては、10mm以上伸長したショートを発根培地に植付けて1カ月間培養し、その後ホルモンフリーの培地に移植し、3週間にわたり発根率を調査した。発根培地としてSOMMERら⁴⁾がPinus palustrisの発根用に改変したRW培地⁵⁾を1/2にしたものに、ショ糖2g/lを添加したものを用いた。ホルモンは、IBAとNNAを単独又は組み合わせて添加した4つの処理区(表-3)を設定し、それぞれ25本のショートを供試した。

発根した個体は、バーミキュライトとパーライトを

混ぜた用土を入れたビニールポットに植え替えて、3週間馴化した後に鉢上げした。

3. 結果と考察

(1) 初代培養

BAP濃度が高いほど腋芽は多数発生したが、最終的に5mm以上伸長したショートの数は、1mg/l添加した処理区が少なく、5%水準で有意な差が認められた。しかし、3, 5, 10mg/lの3つの処理区については互いに統計的に有意な差は認められなかった(表-1)。また、1本当たりのショートの伸長量についてはむしろBAP濃度が低いほど大きい傾向が見られ、発根に供した10mm以上のショートの発生数は3mg/lの処理区が最も多かった。

(2) 継代培養

継代培養における光周期条件を検討した結果、通常の16時間日長より24時間日長で培養したほうがショートの発生本数、伸長量も優っており(表-2)、発生本数については5%水準、伸長量については1%水準で有意な差が認められた。グイマツ雑種F1の培養系においても、各生育段階で異なる光周期条件を用いて分化を制御し、高い苗木化率を達成している⁶⁾。従ってクロマツの培養系においても、各生育段階の光周期条件を再検討する必要があると考えられる。

(3) 発根条件の検討

ショ糖に関しては同じPinus属の発根培地において、濃度を通常の20g/lより減じて添加することにより発根率が向上したことが報告されている。SUPRIYANT and R.ROHR⁷⁾は、Pinus sylvestrisの発根において、ショ糖濃度を2g/lに減じて添加することにより、発根率が50%から約100%に向上したとしている。今回の実験でも、ショ糖濃度を2g/lに減じて添加し、今までの報告より比較的高い発根率を得ることができた。しかし、ショ糖濃度を減ずることにより、なぜ発根が促進されるかといった生理的なメカニズムを解明する必要がある。

また、基本培地とした1/2改変RW培地の対照として、

1/2LP培地においても同様に発根処理を行ったが発根率は低く、1/2 改変 RW 培地の方が優れていた(表-3)。発根培地におけるホルモンの組み合わせでは、IBA 0.5mg/l と NAA 0.2mg/l を添加した処理区で、96% と最も高い発根率が得られた(表-3)。

広葉樹においても、IBA と NAA を組み合わせることにより高い発根率が得られており、例えばオノオレカンバでは、IBA 0.5mg/l、NAA 0.02mg/l の処理区で最も発根率が高くなっている⁵。IBA 3mg/l 単独およびIBA 3mg/l、NAA 0.2mg/l の処理区では、カルスが肥大化するものが観察され、IBA を高濃度に添加した場合、カルスが肥大化することにより発根が阻害される可能性がある。

馴化する際に枯死した個体は、80本中 6 本であり、生存率は、92.5% であった。したがって、ホルモンの作用など発根のメカニズムの解明が必要であるが、発根-馴化条件の実用面に関しては、ほぼ問題ないと思われる。

表-1 初代培養におけるホルモン濃度別のショット発生本数

BAP 濃度 (mg/l)	供試本数 (本数)	平均ショット数 (本)	標準偏差
1	40	2.70	1.35
3	40	3.58	1.53
5	40	3.43	1.28
10	40	3.64	1.30

表-2 継代培養における日長時間とショットの発生本数および伸長量

日長時間	発生本数(本)		伸長量(mm)	
	平均	標準偏差	平均	標準偏差
24時間	3.25	2.08	10.43	7.03
16時間	1.83	1.03	7.18	2.22

今後は、初代培養における増殖率を向上させるとともに、各生育段階における最適な光周期条件を検討する必要がある。また、得られたショットからの再増殖における最適条件を検討するなど、苗木生産の実用化に向けた研究が必要である。

引用文献

1. 福田 忠徳ほか:木材学会誌 35, 1139~1143, 1989
2. 石井 克明:森総研報 365, 140~149, 1993
3. 近藤 順二ほか:林育研報 13, 103~115, 1955
4. 黒丸 亮ほか:北海道の林木育種 37, 8~14, 1994
5. 西川 浩己ほか:日林誌 78, 74~78, 1996
6. RISSEK, P. G. and P. R. WHITE : Physiol. Plantarum 17, 620~635, 1964
7. SOMMER, H. E. : Bot. Gaz. 136, 196~200, 1975
8. SUPRIYANTO and R. ROHR : Can. J. Bot. 72, 1144~1149, 1994

表-3 基本培地、ホルモン組成による発根率の違い

基本培地	ホルモン (mg/l)	発根率 (%)
1/2LP	IBA 3	4
1/2 改変 RW	IBA 3	28
1/2 改変 RW	IBA 3, NAA 0.2	40
1/2 改変 RW	IBA 1, NAA 0.2	72
1/2 改変 RW	IBA 0.5, NAA 0.2	96

* 基本培地のショ糖濃度は全て 2g/l とした。