

組織培養によるクロマツの2針葉からの植物体再生

宮崎県林業総合センター 三樹 陽一郎

1. はじめに

現在、マツノザイセンチュウ抵抗性クロマツの苗木生産はマツノザイセンチュウの接種による検定作業を毎回行う必要がある。そこで、一度検定に合格したクローンを、組織培養で増殖することが可能になれば、生産効率の向上が図れる。

クロマツの組織培養を行っている過程で2針葉が成長する場合があるが、針状葉が密集した不定芽に比べて分割が容易で取り扱いやすいことから、2針葉も個体再生に利用できれば増殖率を高めることができる。

今回は2針葉を利用した培養について基礎的資料を得るため、植物ホルモンが与える影響を調べたので報告する。

2. 材料および方法

材料は宮崎県東諸県郡高岡町に設定している抵抗性クロマツ採種園内の田辺ク-54から採種した種子で、その芽生えを外植体とした継代培養中の幼植物体を用いた。

まず、前処理として6-ベンジルアミノプリン(BAP)5mg/l、ショ糖20g/lそしてゲランガム2g/lを添加したGD(DBM1)培地²⁾に、幼植物体を切り分けずに、そのまま移植して1ヶ月間培養した。次に、2針葉を1対ずつ切り出して、オーキシンを添加した培地に葉束挿しを行った。培地は濃度を1/2に薄めたGD培地にショ糖10g/l、寒天8g/lを添加したものを基本とし、オーキシンは4-クロロフェノキシ酢酸(CPA)、インドール酪酸(IBA)そして α -ナフチル酢酸(NAA)の3種類を用い、それぞれ0.02、0.2、2mg/lの3水準で培地に加えた。培養環境は温度25℃、照度5klx、20時間日長で3ヶ月間の培養を行い、シュートおよび根の発生状況を調査した。なお、シュートは2針葉の葉束基部から3mm以上成長したものとし、その数は継代の際に分割可能な個数とした。

3. 結果

全体的にみると、前処理後2針葉を切り出した時点では葉束基部からシュートが発生している供試体はなかったが、オーキシンによる各処理区で3ヶ月培養を行った後は、同部位からシュートあるいは根が発生するものがあつた。シュートは数本の針状葉が束になって伸長しており、茎状の器官は確認できなかった。このことから、以下のシュートとは培養後に新たに発生した針状葉のことをいい、シュート伸長量は針状葉の長さをいう。

オーキシン種類ごとに成長状況をみると、CPA処理(表-1)ではシュートの発生率は25~30%で濃度による変化は見られなかったが、伸長量については0.2mg/l添加区が他区と比較してやや高い値を示した。発根率はどの濃度区も10%台で効果は認められなかった。IBA処理(表-2)ではシュート発生率は40~55%と濃度間で著しい変化はなかった。発根については2mg/l添加区が他区よりやや多く発生し、伸長量も著しく高い値を示した。NAA処理(表-3)のシュートの発生率は0.02mg/l添加区では45%であったが、2mg/l添加区では発生がなく、濃度が高くなるほど発生率が低下する傾向を示した。また、シュートの伸長量は0.02および0.2mg/l添加区ともに同程度であった。発根については、濃度が高くなるほど発生率が上がる傾向を示し、2mg/l添加区では55%で、一時根数も平均13.8本と他区と比較して著しく発生した。しかし、伸長量は平均0.02および0.2mg/l添加区がそれぞれ平均33.2、21.7mmに対して2mg/l添加区は5.5mmと伸長しなかった。

4. 考察

今回実験を試みた処理区のうちCPAの添加は個体再生に対して有効性が少ないことが判った。また、IBAの低濃度では発根率が低く、NAAの高濃度ではシュートの発生を抑制する傾向を示した。以上のことから、

IBA2mg/l あるいは NAA0.02mg/l の処理が個体再生に対して有望と考えられた。しかし、シュート数が2個以上発生した処理区または茎が伸長した供試体は認められなかったこと、シュートと根の両方の発生率も低かったことから、十分な効果が得られたとは言い難い。万木ら⁸は野外に生育しているマツ属の葉の原基形成および展開について、日長条件が深く関与していることを明らかにしており、。また、後藤ら⁹は腋芽から伸長させたシュートを IBA0.5mg/l と NAA0.2mg/l を組み合わせた培地で培養することにより、高い発根率を得ている。このことから、今回行った BAP による前処理

の見直しのほか、光環境およびホルモンの組合わせについても検討する必要がある。

引用文献

- (1) 後藤 晋ほか：日林九支研論，50，57-58，1997
- (2) GRESHOFF, P. M. and DOY, C. H. : Planta, 107, 161-170, 1972
- (3) SOMMER., H. E. et al. : Bot. Gaz., 136, 196-200, 1975
- (4) 万木 豊ほか：102 回日林論，5-8，1991

表-1 CPA 濃度がシュート伸長及び発根におよぼす影響

濃度 (mg/l)	供試数 (本)	シュート伸長 (S)				発根 (R)				(S) + (R)	
		発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)
0.02	20	5	25	1(1~1)	8.2(3~14)	2	10	1.0(1, 1)	21.0(18, 24)	1	5
0.2	20	5	25	1(1~1)	12.8(7~20)	3	15	1.0(1~1)	24.6(17~32)	1	5
2	20	6	30	1(1~1)	7.3(4~17)	2	10	1.0(1, 1)	10.0(9, 11)	0	0

* () は最小~最大値で発生数が3本に満たない場合はそれぞれの値。以下の表も同じ。

表-2 IBA 濃度がシュート伸長及び発根におよぼす影響

濃度 (mg/l)	供試数 (本)	シュート伸長 (S)				発根 (R)				(S) + (R)	
		発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)
0.02	20	9	45	1(1~1)	10.8(3~20)	1	5	1.0(1)	3.0(3)	0	0
0.2	20	8	40	1(1~1)	10.6(6~18)	1	5	1.0(1)	5.0(5)	1	5
2	20	11	55	1(1~1)	8.6(3~16)	6	30	2.5(1~4)	48.1(6~85)	5	25

表-3 NAA 濃度がシュート伸長及び発根におよぼす影響

濃度 (mg/l)	供試数 (本)	シュート伸長 (S)				発根 (R)				(S) + (R)	
		発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)	平均シュート数 (個)	平均身長量 (mm)	発生数 (本)	発生率 (%)
0.02	20	9	45	1(1~1)	8.9(5~13)	6	30	1.2(1~2)	33.2(19, 47)	5	25
0.2	20	7	35	1(1~1)	6.7(3~15)	7	35	1.4(1~2)	21.7(5~35)	3	15
2	20	0	0	0	0	11	55	13.8(3~22)	5.5(2~26)	0	0