

組織培養と分根による一才センダンの増殖

九州大学農学部 保坂 武宣・玉泉幸一郎
齋藤 明

1. はじめに

一才センダン(クサセンダン)はセンダンと同属で、樹高がきわめて低く開花性が高いことから、鑑賞用植物として利用されている。

本植物の増殖方法は実生を用いるのが一般的であるが、個体間の変異が大きいことや種子の入手が困難で、大量に増殖できないなどの問題がある。

本研究では、大量増殖を行うことを目的として、組織培養と分根による増殖を試みた。

2. 材料と方法

(1) 組織培養

材料は、1996年6月、高さが平均20cm、根元径が平均8mmでプラスチック製の6号鉢に植えられた苗木6本を供試した。

実験に用いる前の2週間を、室内の日当たりの良い所で管理した。主軸を切断し中性洗剤で洗浄した後、当年生の腋芽を受けたY字型の小片に切り分け、外植体として供試した。

外植体の殺菌は、70%エタノールで3分間、3%次亜塩素酸ナトリウムで5分間表面殺菌し、さらに、滅菌水で4回洗浄した。

初代培養用培地は、1/2MSおよびWPM培地を基本培地とし、いずれもショ糖20g/l、ゲルライト2.4g/lまたは寒天8g/lを加え、BAP(6-ベンジルアミノブリノン)0.5mg/lを添加したものに外植体を植付した。

継代用培地は、初代培地を同様に用い、BAP濃度は0.5-0.1mg/lまでを添加した。形成されたカルスや伸長したショートを切り分け、約3週間で継代培養した。さらに、97年4月、1/2MS培地で増殖した一部の個体をBTM培地にショ糖、BAPを同様に添加した異なる培地に植え替え増殖を試みた。

発根用培地は、1/2MS培地を基本としショ糖20g/lを加え、IBA(3-インドール酢酸)、IAA(3-インドール酢酸)をそれぞれ1.0, 1.5, 2.0mg/l添加した。バーミキュライト約9gを支持体として培地20mlを加えた100mlのコニカルビーカーを使用した。発根には、長さ3cmに伸長したショートを切り取り発根用培地に植え付けた。

一連の試験を通じて1日16時間約3,000lxの蛍光灯照明条件下で $25 \pm 3^{\circ}\text{C}$ の恒温室内で培養した。

発根の確認された個体は、蓋の上に穴を開け順化した。約1ヶ月後バーミキュライトを洗い流し、バイオポットに移植後、2週間に1回、ハイポネックス1,000倍液の10mlを与える、温度25度、湿度70%、自然光条件で育成し、約1ヶ月後にプラスチック製4号鉢に移植した。

(2) 分根

組織培養に用いた苗木の1本を96年8月23日、根茎を掘り出し水洗いし、すべての根を長さ5cmに切断した。切断面にはすべてトップシンペーストを塗布した。用土にはバーミキュライトを用いプランターの中に切断した根を植え付けた。その後、灌水は2, 3日間隔で行い、直射日光が当たらない場所で管理した。同年11月に、萌芽の発生した分根を掘り起し、根の発生形態を調べた。萌芽再生した個体は、素焼き8号鉢に移植した。

3. 結果と考察

(2) 組織培養による増殖

外植体の植付本数とコンタミ率を表-1に示した。主軸の切り取りは、各個体とも2~4回に分けて異なる日に行なった。6個体から得られた外植体総数は376個で、個体別に異なり、最も多かったのは個体番号4で100個であった。このうち汚染されなかつた個体は243個体で、早い時期に植え付けた外植体のコンタミ数は多く、その後、次第にコンタミ数は少なくなった。苗木が室内で管理された時間に差があり、外植体の殺菌効果は異なった。

個体別の増殖経過と増殖率を表-2に示した。各個体とも1/2MS培地では良好な増殖が見られたが、WPM培地では増殖ができなかつたので途中で中止した。97年1月における個体の増殖数は273個体で、個体番号1で増殖が見られたが、他の個体はほとんど増殖は見られなかつた。

BTM培地に移し継代培養を行つた結果、1/2MS培地ほどの増加は見られず、シートの伸びも良くなかった。

98年1月における増殖数は全体で1208個体であり、増殖率は外植体の約3.2倍となつた。個体別の増殖率は、1/2MS、BTM培地ともに個体番号1と4が優れ、他の個体は低く、個体による差が見られた。

発根に及ぼすホルモンと培地の影響を表-3に示した。供試数は各培地ともIBAが20個、IAAが20個であった。培地は1/2MSで発根率が高く、ホルモンはIBAで濃度は1.0~1.5mg/lが適していた。

この結果を受けて、1/2MS培地にIBA1.0mg/lを添加した培地を発根用として用いた。発根経過および発根率と順化数を表-4に示した。高い増殖率を示した個体ほど発根率も高く、なかでも個体番号4は69.5%で発根率が最も高い個体であった。

表-1 外植体の植付本数とコンタミ率

年月日	個体番号	植付本数	生存数	コンタミ数	コンタミ率	培地の種類
96.6.14	1	30	4	26	86.7	1/2MS
96.6.17	2	20	3	17	85.0	1/2MS
96.6.17	3	22	2	20	90.9	1/2MS
96.6.17	4	14	2	12	85.7	1/2MS
96.6.17	5	9	5	4	44.4	1/2MS
96.6.25	6	11	0	11	100.0	1/2MS
96.7.17	4	9	5	4	44.4	1/2MS
96.7.17	1	5	1	4	80.0	1/2MS
96.7.17	2	9	3	6	66.7	1/2MS
96.8.26	2	21	20	1	4.8	1/2MS
96.8.26	4	29	29	0	0	1/2MS
96.8.28	1	30	23	7	23.3	1/2MS
96.8.28	5	20	17	3	15.0	1/2MS
96.8.30	1	12	10	2	16.7	WPM
96.8.30	4	48	46	2	4.2	WPM
96.9.13	3	48	42	6	12.5	1/2MS
96.9.13	6	39	31	8	20.5	1/2MS
合計		376	243	133		

表-2 個体別の増殖経過と増殖率

培地の種類	個体番号	外植本数	増殖数			増殖率(倍)
			(96.10)	(97.1)	(97.4)	
1/2MS	1	65	28	93	160	264 4.06
	2	50	26	26	40	56 1.12
	3	70	44	44	70	128 1.83
	4	52	36	44	230	340 6.54
	5	29	22	29	55	65 2.24
	6	50	31	37	70	129 2.58
WPM	1	12	10	0		
	4	48	46	0		
BTM	1			20	61	3.05
	2			10	19	1.90
	3			11	22	2.00
	4			20	70	3.50
	5			10	25	2.50
	6			10	29	2.90
合計		376	243	273	706	1208

98年4月までの増殖の結果、供試個体545本に対し310本の発根個体を得ることができた。全体での発根率は56.9%であった。また、同時期までに190個体の幼植物体が順化された。

(2) 分根による増殖

分根からの萌芽の発生は植え付けて25日経過した9月17日に認められた。切断された根の上部(幹側)から萌芽が発生し、もう片方から発根した。このような発生形態はすべての分根で同じであった。(写真-1)

今回の試料から40個の分根が得られ、そのなかで、萌芽が発生した分根は13個すべての直径が5mm以上のもので、小さなもののからの萌芽は見られなかった。

今回の試料と同じサイズの苗木であれば、5mm以上の分根は10本ほど得されることから、クローンを確実に増殖する方法としては適した方法であると考えられる。

表-3 発根に及ぼすホルモンと培地の影響

培地の種類	ホルモン	濃度 1.0mg/l	1.5mg/l	2.0mg/l
1/2MS	IBA	65 %	60 %	20 %
	IAA	0	20	10
BTM	IBA	0	35	0
	IAA	0	20	10

表-4 発根経過および発根率と順化数

個体番号	97.1発根(順化)	98.1発根(順化)	98.4発根(順化)	供試個体	発根率
1	12 (6)	67 (31)	74 (41)	130	56.9
2	2 (1)	4 (2)	5 (3)	15	33.3
3	2 (1)	14 (9)	17 (12)	48	35.1
4	1 (1)	136 (78)	169 (108)	243	69.5
5	2 (1)	8 (5)	13 (8)	40	32.5
6	2 (1)	26 (15)	33 (18)	69	47.8
全体会	21 (11)	255 (140)	310 (190)	545	56.9

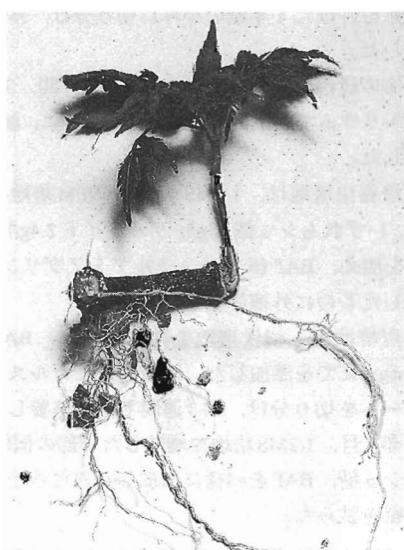


写真-1 根の発生形態