

# 組織培養によるセンダンの成木からの植物体の再生\*<sup>1</sup>

保坂 武宣\*<sup>2</sup> ・ 玉泉幸一郎\*<sup>3</sup>

## I. はじめに

センダン (*Melia azedarach* L.) は、成長の早い樹種として知られ、加えて、材はケヤキ材やキリ材と類似し経済的価値の高い樹種である。

組織培養では、一般的に幼齢木からの増殖は可能でも、老齢木からの増殖は難しいと言われている。しかし、優れた遺伝形質を持つ老齢木から、組織培養で大量にクローン増殖ができれば育種効果を高めることが期待できる。

これまで、センダンの組織培養による研究については、水ざしにより発生させた萌芽を外植体として用いる方法で植物体を再生している (1) (2)。これらの報告では、4年生および7年生の幼齢木から植物体を再生しているが、30年生の成木からは増殖できず枯死に至ったことが報告されている (1)。

そこで、今回は成木を対象として、これまでと同じ水ざし萌芽法での植物体再生を試みた。

## II. 材料と方法

### (1) 供試木

宮崎県西臼杵郡北方町の九州林産 (株) 社有林で標高550m 地点に生育する48年生のセンダンを供試個体とした。スギ林の中に一本だけ生育し、樹高は20m、胸高直径71cm、樹冠幅は25m × 25m、地際から枝下までは7.6m で通直な個体であった。

### (2) 外植体

2000年4月11日に、供試木の高さ約10mから枝を切断した。長さ50cm、直径3~8cmの丸太4本に切り分け、これらを実験室に搬入し水ざし萌芽を発生させた。水ざし後34日目、43日目、55日目に腋芽1個を含むY字形小辺に切り分け外植体として供試した。

外植体の殺菌の1回目は、70%アルコールで30秒間、1%の次亜鉛素酸ナトリウム溶液で15分間、表面殺菌した後、滅菌水で4回洗浄した (1) (2)。2回目、3回目は次亜鉛素酸ナトリウム溶液の濃度を3%とし、時間を5分間に短くした。

### (3) シュート伸長用培地

BTM 培地にサッカロース20g/lを加えたものを基本

培地とし、8g/lの寒天およびBAP(6-ベンジルアミノプリン)を添加した。初期培地にはBAPを0.5mg/l添加したものをを用い、継代が進むにつれて0.3mg/lおよび0.1mg/lに低下させた。

シュート伸長用培地は、約2~3週間間隔で継代を行った。一連の試験を通じて1日16時間約3000lxの蛍光照明条件下で25 ± 1℃の恒温室内で培養した。

### (4) 発根用培地

発根用培地は、シュート伸長用に使用した基本培地に3-インドール酢酸 (IAA) を5, 10mg/l添加したものと、3-インドール酪酸 (IBA) を5, 10mg/l添加した4種類を用いた。パーミキュライト約9gを支持体として培地20mlを加え、100mlのコニカルピーカーに植え付けた。

## III. 結果と考察

外植体の植え付け日と殺菌方法および汚染率を表-1に示した。1回目の植え付けは、水ざし後34日目で、70%アルコールで30秒間、1%の次亜鉛素酸ナトリウム溶液で15分間の殺菌を行った結果、全く効果がなく100%が汚染された。このため、2回目、3回目の植え付け時には、3%の次亜鉛素酸ナトリウム溶液で5分間行った結果、2回目は汚染率8.3%、3回目は4%に低下した。

汚染率が低下したのは、殺菌方法を変化させたことに効果があったのか、後出の萌芽の汚染が少なかったためなのかは不明である。水ざし萌芽であれば殺菌の条件を検討したり、萌芽の発生時期の異なるものを使用するなどして汚染率を低下できるといえる。

外植体の枯死率を表-2に示した。成木から得た外植体のなかには、葉は大きく展開したがシュートが伸長せず衰弱したものがあり、継体5回目までにほぼ半分が枯死した。家入らの報告 (1) でも30年生の成木から外植体を得て、5回目の継代においてすべてが枯死している。幼齢木からの増殖 (2) では、同継代時までの枯死率は4.8%と少なかった。

これらの結果を合わせて判断すると、成木ではエイジングが進み、活性が低下していることから、初期培養において生存の可否が重要になるといえる。

\*<sup>1</sup> Hosaka, T. and Gyokusen, K. : *In vitro* plantlet regeneration from axillary buds of an adult *Melia azedarach*

\*<sup>2</sup> 九州大学農学部 Fac. of Agric., Kyushu Univ., Fukuoka 812-8581

\*<sup>3</sup> 九州大学大学院農学研究院 Fac. of Agric., Graduate School of Kyusyu Univ., Fukuoka 812-8581

図-1に培養日数とシュート本数の推移を示した。図では、初期培地のBAP 5mg/lで継代した4本の外植体の変化を示している。46日から64日を境にシュートの本数が急激に増加したことがわかる。幼齡木からの増殖(2)においても、シュートの増殖が高まるのは80日前後であったことから、試験管内の環境に順化するのに要する期間は、成木、幼齡木であり変わらないといえる。

シュートの伸長に及ぼすBAP濃度の影響を検討するため、初期培地のBAP0.5mg/lで継代したなかから、84日目(5回目の継代時)において、ほぼ同じ長さの3本のシュートを1グループとし、そのままのBAP濃度で継代するものと、BAP濃度を0.3mg/lと0.1mg/lに変更した3種類の培地に植え替えた。その後、20日目におけるシュート平均伸長量と平均増殖数を図-2に示した。0.1mg/lに変更したシュートの伸長が最も良かったが、増殖数は少なかった。逆に、そのままBAP 0.5mg/lで継代したシュートの増殖数は増えたが、シュートの伸びは小さかった。

これらの結果から、BAP0.5mg/lの濃度で継代し、ある程度のシュート数が得られたら、BAPの濃度を

0.3mg/lおよび0.1mg/lに減少させ、発根培地へ移植するためのシュートを伸長させることが望ましいと判断された。

BAP0.3mg/lおよび0.1mg/lで得られたシュートのなかで、伸長の早いシュート20本を4種類の発根培地に移植した。その結果、約3週間後、IAA 5 mg/lを含んだ培地において1本の発根が認められた。

#### IV. まとめ

- 1) センダンの成木は、水ざし萌芽を外植体とすることで増殖が可能であった。
- 2) 幼齡木と同じ方法での増殖が可能であったが、時期によっては殺菌方法の検討が必要であった。
- 3) 大量の植物体を増殖するには、発根条件についてさらに検討が必要である。

#### 引用文献

- (1) 家入龍二ほか：日林九支研論，48，59～60，1995
- (2) 保坂武宣ほか：日林九支研論，51，45～46，1998

表-1 外植体の植え付け日と殺菌方法および汚染率

植え付け日	殺菌方法	外植体数	汚染数	汚染率 (%)	無菌個体数
1回目	70%アルコール30秒				
水ざし34日目	1%次亜塩素酸ナトリウム 15分	44	44	100.0	0
2回目	70%アルコール30秒				
水ざし43日目	3%次亜塩素酸ナトリウム 5分	26	3	8.3	23
3回目	70%アルコール30秒				
水ざし55日目	3%次亜塩素酸ナトリウム 5分	25	1	4.0	24

表-2 外植体の枯死率

	植付け日	無菌個体数	生存数	枯死数	枯死率 (%)
成木	5月24日	23	10	13	56.5
	6月6日	24	14	10	41.7
幼齡木	4月8日	145	138	7	4.8

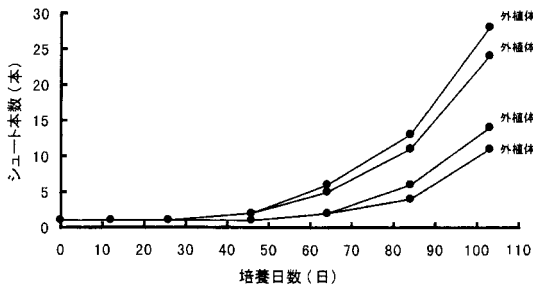


図-1 培養日数とシュート本数の推移

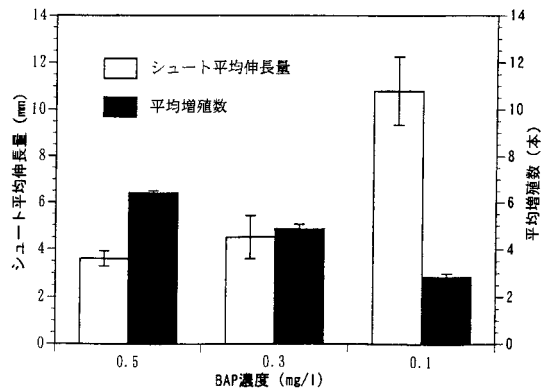


図-2 異なるBAP濃度におけるシュート伸長量と増殖数