

# ヒサカキの腋芽を用いた組織培養<sup>\*1</sup>

三樹陽一郎<sup>\*2</sup>

## I. はじめに

宮崎県小林市西小林地区では、枝物としてヒサカキ (*Eurya japonica*) の栽培に取り組んでいるが、苗は主として山採りに依存している。このため、植栽木の多くは品種、系統に不明な点がある上、枝および葉の形態にバラツキが見られることから、クローン増殖による均一化が求められている。ヒサカキの無性繁殖はさし木増殖も可能<sup>(3)</sup>だが、期間当りでの増殖率に限りがあるため、短期間に大量増殖を図るには組織培養が有望と考えられる。今回は優良個体の当年腋芽を材料として、培養に適切な植物ホルモンの種類と濃度について検討を行ったので報告する。

## II. 材料と方法

### (1) 初代培養

宮崎県小林市の山林内から地元生産者が選抜した7年生のヒサカキ雄株1個体を温室内で育成し、4月下旬に新梢から摘出した腋芽1個を含むY字形の小片(約5mm)を外植体とした。表面殺菌処理は70%エチルアルコール液で3分間、有効塩素5%次亜塩素酸ナトリウム溶液で15分間攪拌しながら殺菌し、滅菌水で洗浄した。

培地はWPM(2)培地にショ糖20g/l、ゲランガム2g/lを添加したものを基本培地とし、これに6-ベンジルアミノプリン(BAP)0, 0.5, 1.0, 3.0 mg/lと $\alpha$ -ナフチル酢酸(NAA)0, 0.02 mg/lを組み合わせて培地に加える方法で7水準の処理区を設けた。培養環境は温度25℃、照度5,000 lx、明期16時間、暗期8時間の設定で3ヶ月間の培養を行い、シュート伸長および腋芽数等について調査した。なお、腋芽数は継代の際に分割可能な個数とした。

### (2) 継代培養

材料は(1)の初代培養で形成されたシュートで、腋芽を

含むように分割し、培地に挿しつけた。基本培地は初代培養と同じで、これにBAP 0.5, 1.0 mg/lとNAA 0.002, 0.02 mg/lを組み合わせて培地に加える方法で4水準の処理区を設けた。培養環境および調査方法は初代培養と同様とした。

## III. 結果

### (1) 初代培養

初代培養において生存状況を見ると、コンタミ数については総供試数210個のうち1個であった。褐変枯死については培養10日以内では認められず、それ以降に枯死したものがあり、NAAを添加していない処理区で生存率が低下する傾向を示した(表-1)。シュート形成状況は生存した供試体のうち早いものでは培養1週間で腋芽から葉が展開し、その後シュートが伸長した。また、BAP無処理区よりも同0.5および1.0 mg/l処理区の方がシュート形成率が高く、さらに、NAAを添加した処理区のほうが良好であった。BAP 3.0 mg/l処理区ではシュート形成を阻害する傾向を示した。シュート伸長量については、BAP 1.0 + NAA 0.02 mg/l処理区が平均11.6 mmと最も伸長し、他の処理区に対して有意差が認められた。継代可能な腋芽数は、BAP 0および3.0 mg/l処理区の約1個に対し、同0.5および1.0 mg/l処理区では3~4個となった(表-2)。

### (2) 継代培養

初代培養で形成された腋芽は別の腋芽との間が非常に狭いため、継代時においては約3 mmの小片を培地に接種した。培養後のシュート形成率はBAP 0.5, 1.0 mg/l処理区ともNAA 0.002 mg/lより0.02 mg/lの処理区が高い値を示した。シュート伸長量および腋芽数においてもNAA 0.02 mg/l処理区の方が伸長し、また腋芽数も多い傾向にあった(表-3)。

<sup>\*1</sup> Mitsugi, Y. : Tissue culture from axillary buds of hisakaki (*Eurya japonica*).

<sup>\*2</sup> 宮崎県林業総合センター Miyazaki Pref. Forestry Res. and Instruc. Cent., Saigo, Miyazaki 883-1101

IV. 考 察

初代培養について各処理区における生存率の違いは、外植体の褐変枯死が10日以内では認められなかった上、NAA無処理区のみで発生していることから、表面殺菌処理での葉害よりも植物ホルモンの添加による影響が大きいと推測された。また、シュート形成率および伸長量、継代可能な腋芽数を総合して評価した場合、BAP 0.5あるいは1.0 mg/ℓとNAA 0.02mg/ℓを添加した培地が増殖に適していると考えられる。

継代培養ではNAA 0.002 mg/ℓを添加した処理区を設けたが、BAP 0.5 + NAA 0.002 mg/ℓの比較的低濃度では成長が劣り、継代培養も初代培養と同様にBAP 0.5あるいは1.0 mg/ℓとNAA 0.02mg/ℓを添加した培地で継代が可能と考えられた。

以上から、植物ホルモンの種類および濃度がシュート

成長に与える影響について基礎的資料は得られた。しかし、初代、継代培養共通して、腋芽はシュート上に約2mm間隔で発生しており、継代あるいは発根培地への作業効率を考慮するとシュート伸長の促進方法を検討する必要がある。また、今回の試験は選抜優良個体1クローンのみであったが、野外で生育しているヒサカキは雌雄異株、同株が両方存在する上、枝の分岐様式も様々である(1)ため、今後は個体間差においてもさらに確かめていきたい。

引用文献

- (1) 八田洋章: 遺伝, 52(2), 72~73, 1998
- (2) Lloyd, G. et al : Comb. Proc. Int. Plant. Soc., 30, 421~427, 1980
- (3) 町田英夫: さし木のすべて, pp.261, 誠文堂新光社, 1974

表-1 初代培養におけるホルモン濃度別供試材料の生存状況

BAP (mg/ℓ)	NAA (mg/ℓ)	供試数 (個)	コンタミ数 (個)	枯死 A (個)	枯死 B (個)	培養後の生存数 (個)	(%)
0	0	30	0	0	5	25	83.3
0.5	0	30	0	0	4	26	86.7
0.5	0.02	30	1	0	0	29	100
1.0	0	30	0	0	1	29	96.7
1.0	0.02	30	0	0	0	30	100
3.0	0	30	0	0	8	22	73.3
3.0	0.02	30	0	0	0	30	100

注) 枯死 A とは培養 10 日以内で褐変枯死した供試数, 枯死 B とは培養 11 日以降で褐変枯死した供試数

表-2 初代培養において植物ホルモン濃度がシュート形成に与える影響

BAP (mg/ℓ)	NAA (mg/ℓ)	生存数 (個)	シュート形成数		シュート伸長量		腋芽数	
			形成数 (個)	形成率 (%)	平均値 ± 標準偏差 (mm)	平均値 ± 標準偏差 (個)		
0	0	25	21	84.0	2.5 ± 0.98a	1.0 ± 0.00a		
0.5	0	26	24	92.3	8.0 ± 3.29c	4.0 ± 1.78c		
0.5	0.02	29	29	100	9.3 ± 5.02c	4.3 ± 2.44c		
1.0	0	29	28	96.6	5.7 ± 2.57b	3.0 ± 1.68b		
1.0	0.02	30	30	100	11.6 ± 5.73d	4.4 ± 2.33c		
3.0	0	22	18	81.3	3.7 ± 1.90ab	1.6 ± 0.70a		
3.0	0.02	30	22	73.3	5.0 ± 4.59b	1.7 ± 1.42a		

注) 平均値間の有意差検定: 同一アルファベット文字では5%水準で有意差がなく, 異文字間では5%水準で有意差があることを示す(以下の表も同じ)

表-3 継代培養において植物ホルモン濃度がシュート形成に与える影響

BAP (mg/ℓ)	NAA (mg/ℓ)	生存数 (個)	シュート形成数		シュート伸長量		腋芽数	
			形成数 (個)	形成率 (%)	平均値 ± 標準偏差 (mm)	平均値 ± 標準偏差 (個)		
0.5	0.002	20	15	75.0	6.8 ± 2.31a	2.1 ± 1.10a		
0.5	0.02	20	20	100	9.1 ± 3.17b	3.5 ± 2.09b		
1.0	0.002	20	14	70.0	9.1 ± 2.95ab	3.1 ± 1.41ab		
1.0	0.02	20	20	100	10.4 ± 3.62b	3.9 ± 2.23b		