

クヌギ組織培養苗育成に関する試験

誌名	愛媛県林業試験場研究報告
ISSN	03892875
著者名	余吾,初徳
発行元	愛媛県林業試験場
巻/号	17号
巻号補足	
掲載ページ	p. 23-27
発行年月	1996年3月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



クヌギ組織培養苗育成に関する試験

資料

余 吾 初 徳

I はじめに

組織培養によるクヌギの増殖技術の開発試験（昭和61年～平成2年度、国補）により、シイタケ原木であるクヌギについて、成木のえき芽を含む茎軸小片を培養することにより、クローン増殖することが可能となった。しかしながら、試験に供試した精英樹については、クローン間の栄養要求性の差異等により増殖率が異なり、安定して高い増殖率を得ることはできなかった。また、環境順化後、成長を開始するまでに長時間を要し、結果的に山行き苗までに成長するまでに長い時間がかかるという問題点を残した。

これら問題点を解決し、クヌギ組織培養苗の育苗期間を短縮するための苗の管理方法として、光、水、養分、植物成長調節物質について、施用する量および期間を検討することにより、組織培養苗の成長特性を明らかにするために本試験を始めた。

しかし、本試験で検討したにもかかわらず、依然としてクローン間の栄養要求性の差異等により安定した苗の増殖に至らず、供試用組織培養苗を大量に得ることができなかったため、上記条件についての成長特性を明らかにすることはできなかった。

本報告では、供試用組織培養苗の準備として、精英樹クローンを用いた増殖および環境順化に関して検討したので、これらについて報告する。

II 研究期間

平成3年度～平成6年度

III 試験方法

1 初代培養における培地組成の検討

(1) 供試個体

本県産精英樹クローンの大洲5号、大洲6号、大洲8号、長浜4号、中山6号、中山7号、小田3号を用いた。

(2) 供試組織

ガラス温室内で鉢植えして管理している個体から、3月下旬～4月上旬に、伸長した当年枝のえき芽を含む茎軸小片で、これを2～3cmのY字状に切り取り調整したものを外植体として用いた。

Hatsunori Yogo

薬剤による殺菌処理は、70%エタノールで1分間攪拌殺菌した後、殺菌水で3回すすぐ方法をとった。

(3) 培地組成

基本培地には、McCownとLloydによって処方されたWPM¹⁾ (Woody Plant Medium) を用い、表-1のようにCa量や植物成長調節物質の濃度を変えて培地を調整し、pHを5.4にし、寒天(0.8%)を添加後オートクレーブで120℃、20分間殺菌したものを用いた。なお、Ca量の調節には、CaCl₂・2H₂Oを用いた。

(4) 培養環境

培養は、約4,000luxの蛍光灯照明下で、16時間日長、温度25℃で行った。培養容器には、アルミホイルで蓋をした18mm×180mmの試験管を用いた。

表-1 供試培地(基本培地:WPM)

培地番号	BAP	NAA	Ca量
1	0	10 ⁻⁶ mol	2倍
2	10 ⁻⁷ mol	10 ⁻⁶ mol	2倍
3	10 ⁻⁶ mol	10 ⁻⁶ mol	2倍
4	3.16×10 ⁻⁶ mol	10 ⁻⁶ mol	2倍
5	0	10 ⁻⁶ mol	標準量
6	10 ⁻⁷ mol	10 ⁻⁶ mol	標準量
7	10 ⁻⁶ mol	10 ⁻⁶ mol	標準量
8	3.16×10 ⁻⁶ mol	10 ⁻⁶ mol	標準量

2 環境順化における薬剤の影響

(1) 供試個体

クヌギ種子を無菌的に発芽させて得られた上胚軸由来のシュートを増殖して継代培養を重ねている培養物から発根苗を作成して供試した。

(2) 調査方法

準備した供試個体の根に付着した寒天を水洗いした後、鹿沼土に鉢上げして、160本を4区に分け、それぞれ表-2のような植物成長調節物質を葉面散布して、その後の成長を64日間観察した。

表-2 処理別使用植物成長調節物質

処 理 名	使用薬品および濃度
サイトカイニン処理	BAP 10 ⁻³ mol
サイトカイニン+オーキシニン処理	BAP 10 ⁻³ mol+NAA 10 ⁻³ mol
ジベレリン処理	GA ₃ 10 ⁻³ mol
対 照	水

3 環境順化における前処理の影響

(1) 供試個体

2の(1)で作成した発根苗を供試した。

(2) 前処理

バーミキュライトを培養土として用い、ハイポネクス（5-10-5）1,000倍液を施用し、培養室内で無菌的に培養した。培養容器としては、キノコ袋栽培用通気フィルターを取り付けた、ポリカーボネイト製の通気性容器（φ8cm、H10cm、通気孔1.5cm）を使用した。ハイポネクス溶液は約1カ月おきに追加施用し、6カ月間繰返し培養を行った。

(3) 調査方法

前処理を施した発根苗を、4月上旬にバーミキュライトが付着したまま苗畑土に移植して、戸外で生存状況を観察した。また、参考として、10℃16時間日長、5℃8時間暗黒条件下で6カ月間培養した発根苗を鹿沼土に鉢上げし、ガラス温室内で1年間培養した組織培養苗も戸外に移し生存状態を観察した。

IV 結 果

1 初代培養における培地組成の検討

培養開始後45日目のシュートの生存本数と供試本数を各クローンおよび培地ごとに表-3に示した。各クローンおよび培地ごとの生存率を図-1に示したが、その結果、大洲5号については、WPMのCa量を2倍にし、 $BAP10^{-7}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものがえき芽の生存数が大であった。しかし、えき芽の伸長状況からみれば $BAP10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが成績がよかった。大洲6号については、WPMのCa量を2倍にし、 $BAP3.16 \times 10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが、長浜4号については、WPMに $BAP10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが、中山6号については、WPMのCa量を2倍にし、 $BAP7 \times 3.16 \times 10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが、中山7号については、WPMに $BAP10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが、小田3号については、WPMのCa量を2倍にし、 $BAP10^{-6}mol$ 、 $NAA10^{-8}mol$ 添加したものが、それぞれえき芽の生存数およびシュートの成長が良好であった。全体的に今回供試したクローンは組織培養に適すると思われたが、その中でも、経験上、大洲5号、大洲8号、長浜4号、中山7号は、特に組織培養に適していると思われた。

表-3 初代培養におけるシュート生存本数

大洲5			大洲6		長浜4		中山6		中山7		大洲8		小田3	
培地 番号	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数	生存 本数	供試 本数
1	25	33	8	22			4	8					3	6
2	26	33	7	22			7	8					1	6
3	19	33	13	23			7	8					5	6
4	19	34	12	23			7	8					4	6
5					7	24			0	6				
6					12	24			0	6				
7					15	25			2	5				
8	11	32	37	83	20	61	2	10	13	45	13	33		

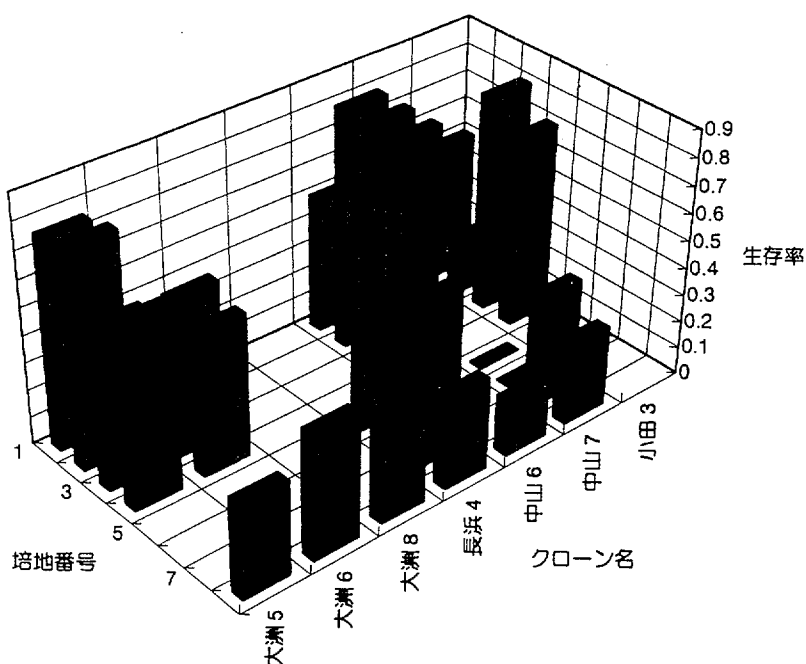


図-1 初代培養におけるシュート生存率

2 環境順化における薬剤の影響

サイトカイニン処理区とサイトカイニン+オーキシン処理区は64日後にはすべて枯死したが、ジベレリン処理区は22%の生存率で、対照区は30%の生存率を示した。図-2に、生存した苗の平均苗長の日数変化を示したが、順化段階におけるジベレリンの葉面散布は、苗の伸長にプラスに働いている傾向があると思われた。

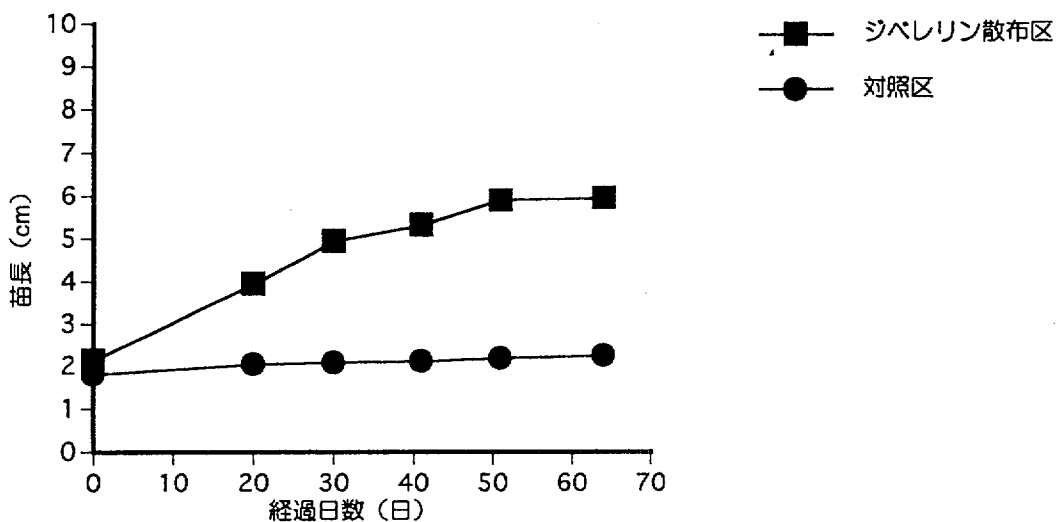


図-2 ジベレリン葉面散布による苗の成長変化

3 環境順化における前処理の影響

前処理を施した発根苗の培養容器内での根系の発達および苗の上長成長は良好であり、健全な発根苗が得られた。処理後100日目の苗の生存本数は、供試苗510本に対し97本であり健全率は19%であった。低い健全率の原因としては、4月上旬の低温が考えられた。また、参考として供試した低温処理苗については、処理後100日目の苗の生存本数は、供試苗168本に対し117本であり、健全率は70%であった。

V おわりに

本試験においては、上記のとおり、初代培養における各クローン個別の適正培地について検討を加え、ある程度条件を把握することができた。今後は、このデータを参考にして、継代培養における適正培地の検討を継続し、クローンごとの条件を把握する必要がある。また、環境順化前のハイポネクス溶液による前処理を施すことにより根系の発達および上長成長が良好な苗が得られたため、これを利用した自然条件下での順化時期の検討も行う必要があると思われる。

引用文献

- 1) Lloyd, G.&McCown, B. H. : Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Proc. Int. Plant Prop.Soc. 30: 421~427, 1981