

道産広葉樹 4 種の組織培養によるクローン増殖の試み

森林資源科学講座 樹木生物学分野

玉木 健也

【緒言】組織培養とは植物体の一部を直接培地に植えつけることで生育させる技術である。特に頂端分裂組織を含む茎頂を用いた培養は茎頂培養と呼ばれ、母樹と同じ遺伝子型をもつ個体を得られることから、樹木の保存と増殖に適した手段の一つである。しかし植物の生育に有効な培養条件は樹種によって異なり、多くの樹種について組織培養法を用いた増殖・保存の技術が確立されているとはいえない。そこで本研究では、北海道に分布し、名木や古木が存在する樹種や絶滅危惧種のうち、発根や培養系確立の報告例がない樹種である、カツラ (*Cercidiphyllum japonicum*) クロミサンザシ (*Crataegus chlorosarca*)、カシワ (*Quercus dentata*)、クロビイタヤ (*Acer miyabei*) について組織培養によるクローン増殖を目的とした培養条件を検討した。

【実験方法】(シュートの誘導) カツラ、クロミサンザシ、クロビイタヤを供試木とし、それぞれ 8 月～3 月に冬芽の採取を行った。水洗と滅菌の後、茎頂を取り出し培地に植え付けた。植え付け培地として WPM 培地に植物ホルモンにナフチル酢酸 (NAA) 0, 1 μM にベンジルアミノプリン (BAP) 0, 1, 2, 5, 10 μM もしくはホルクロロフェニユロン (CPPU) 0, 1, 2, 5, 10 μM を組み合わせて添加した条件を検討した。(発根の誘導) カツラの茎頂を NAA 1 μM と BAP 0, 1 μM を組み合わせて添加した WPM 培地で 3 ヶ月培養した後、植え付けた培地の条件にさらにインドール酪酸 (IBA) 0, 1, 5, 10 μM を添加した発根培地に植え継いだ。(発根の誘導と腋芽を含む節からの増殖) 3 ヶ月培養したカツラの茎頂から得られた植物体を節ごとに切断した。切断した節は WPM 培地に NAA 0, 1 μM と BAP 0, 1 μM を組み合わせて添加した条件を用いて培養を行い、8 月に植え付けた茎頂から得た節ではさらに培地支持材として寒天とパーミキュライトを用いたものの比較を行った。(不定胚の培養) 7～8 月にクロミサンザシの種子を、11 月にカシワの種子をそれぞれ採取し、胚を取り出して培地上に植え付けた。植え付け培地として 1/2MS 培地上に 2,4-D 0, 1, 5, 25 μM と BAP を 0, 1 μM を組み合わせて添加した培地を用いた。

【結果および考察】(シュートの誘導) カツラの茎頂では WPM 培地に NAA 1 μM と BAP 1 μM をともに添加した条件と、BAP 1 μM を単独で添加した条件で最も多くのシュートが得られた。クロミサンザシでは BAP 2 μM 、CPPU 2 μM で最も多くシュートを得られた。クロビイタヤでは茎頂は生育しなかった。(発根の誘導) カツラの茎頂において IBA を添加せず、継代後 2 ヶ月経過した条件で発根が観察された。(発根の誘導と腋芽を含む節からの増殖) カツラにおいて 2 月に植え付けた節では NAA 1 μM を単独で添加した条件で節からのシュート伸長が見られ、発根する様子が観察された (図 1)。8 月に植え付けた茎頂を用いた節では NAA 1 μM と BAP 1 μM をともに添加した条件と BAP 1 μM 、NAA 1 μM を単独で添加した条件で節からシュートが伸長した。(不定胚の培養) クロミサンザシの種子からカルス、カシワの種子ではカルスに加えてシュートを得られたが不定胚は得られなかった。

本研究ではカツラ茎頂から発根した植物体を得られ、また節から植物体を再生することのできるクローン増殖条件の確立に至った。クロミサンザシではシュートが得られ、発根条件の検討、決定をすることで増殖条件を確立できる。

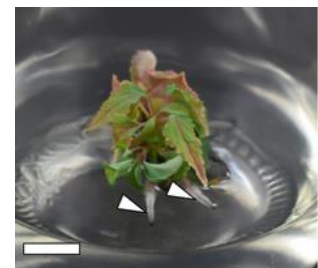


図 1 節から発根したカツラ植物体
植物体から切り分け後 NAA 1 μM を添加した WPM 培地上で 133 日培養した。
矢じり:根、Bar= 1 cm