

12. 稀少植物増殖試験

(1) シダレアカシデ冬芽組織培養試験(その2)

佐藤晶春

〔目的〕

日の出町大久野の幸神神社にある国指定天然記念物「幸神神社のシダレアカシデ」は老齢等のため衰退しつつあるので、組織培養技術等により後継樹の増殖と保存技術を開発し、貴重な遺伝資源の保存を目指す。文化庁の現状変更の許可を受け、平成11年度当年年報「シダレアカシデ冬芽組織培養試験」に引き続き、「幸神神社のシダレアカシデ」の冬芽を用いた組織培養試験について報告する。

〔方法〕

1. 材料の調整と培養方法

表 - 1のように、2000年2月16日～3月1日の間にシダレアカシデの冬芽を含む小枝を採取し、同2月16日～3月2日までの7回に分けて培養を開始した。昨年の試験では、殺菌がうまくいかなかったため、表 - 2のような塩化ベンザルコニウム0.1%溶液、エタノール70%溶液、次亜塩素酸ナトリウム1%溶液、塩化第二水銀0.1%溶液、過酸化水素1.5%溶液の5種類を組み合わせた6通りの方法で冬芽を殺菌した。これらの冬芽は一芽ずつ含んだ小片に切り分けた後に殺菌した。その後、滅菌したピンセットを炭酸ナトリウム2%溶液で洗いながら鱗片を取り除いて、滅菌したメスで小片から切り離し培地へ植えた。

2. 培地と培養条件


初代の培地はWPM培地にBAP(6-ベンジルアミノプリン)0.5mg/l、GA₃(ジベレリンA₃)5.0mg/lを加えたものとし、2代目は初代と同じ培地と1/2WPM培地にIBA(3-インドール酪酸)0.2mg/lを加えた2種類とした。試料数は表 - 2のとおり計55本とした。これらの培地にはショ糖2%、寒天0.8%を加え、18×180mmの試験管に分注し、オートクレーブを用いて、121℃15分間高圧滅菌した。なお、寒天添加前にWPM培地は、pH5.8に調整した。これらの培地はすべて25℃、16時間日長の恒温条件で培養した。

3. 調査方法

初代培養14日～23日後に冬芽の状態を調べた。

〔結果〕

表 - 3に各殺菌処理区別の初代培養期間中のコンタミネーション数、枯死数を示す。

まず、コンタミネーションは、初代培養期間中に全てコンタミネーションを生じた処理区を除いて、ほとんど生じなかった。枯死は、処理区で生じたが、他の処理区は初代培養期間中には生じなかった。初代培養期間における冬芽の生存状況であるが、図 - 1のように、葉は展開しないものの、縦方向の伸長が見られた。初代培養期間後、2代目培地に継代したが、継代後約2週間までに全ての冬芽が枯死した。

以上の結果から、今回の試験で行った冬芽に対する殺菌方法はある程度有効なことがわかった。しかし、冬芽の伸長は見られたものの、全て枯死してしまったために、培地条件については検討する必要があると考えられた。

表-1 採取日と培養開始日

処理区	採取日	培養開始日
①	2000. 2. 16	2000. 2. 16
②	2000. 2. 17	2000. 2. 17
③	2000. 2. 17	2000. 2. 21
④	2000. 2. 24	2000. 2. 24
⑤	2000. 2. 24	2000. 2. 25
⑥	2000. 3. 1	2000. 3. 1
⑦	2000. 3. 1	2000. 3. 2

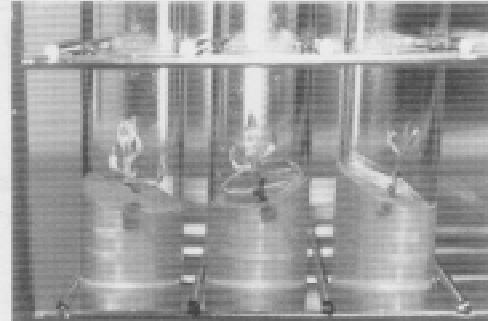


図-1 初代培養期間中の冬芽の状態

表-2 各処理区における殺菌方法

処理区	殺菌方法	試料数
①	ベンザル30分、エタノール1分、アンチホルミン10分、昇汞20分	6
②	ベンザル30分、エタノール1分、昇汞20分	7
③	ベンザル30分、エタノール1分、アンチホルミン20分、過酸化水素10分	8
④	ベンザル30分、エタノール1分、アンチホルミン10分、過酸化水素10分、昇汞20分	10
⑤	ベンザル30分、エタノール1分、昇汞30分	10
⑥	①処理区と同じ	7
⑦	ベンザル30分、エタノール1分、アンチホルミン30分、過酸化水素10分	7
計		55

※ベンザル＝塩化ベンザルコニウム0.1%溶液、エタノール＝エタノール70%溶液、
アンチホルミン＝次亜塩素酸ナトリウム1%溶液、昇汞＝塩化第二水銀0.1%溶液、
過酸化水素＝過酸化水素1.5%溶液

表-3 各処理区の初代培養期間中のコンタミネーション数、枯死数

処理区	初代培養期間	コンタミネーション数	枯死数	試料数
①	23日	0	0	6
②	22日	7	0	7
③	18日	1	0	8
④	15日	0	3	10
⑤	14日	1	2	10
⑥	15日	0	2	7
⑦	14日	0	0	7