

13. 稀少植物増殖試験

(2) シダレアカシデ腋芽組織培養試験

佐藤晶春

〔目的〕

前項「シダレアカシデ冬芽組織培養試験」に同じ目的とし、今回、「幸神社のシダレアカシデ」の腋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5月24日～6月5日の間にシダレアカシデの腋芽を含む小枝を採取した。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、過酸化水素水1.5%溶液の5種類を組み合わせた5通りの方法で腋芽を殺菌処理した。これらの小枝は腋芽1個を含む節片に切り分け葉を取り除き殺菌を行い、その後、滅菌したメスで傷んだ切り口を切断し、図 - 1 のように培地へ植え込んだ。

2. 培地と培養条件

培地は表 - 3 に示すとおり、殺菌処理法により5種類の培地を用いた。これらはWPM培地にBA P(6-ベンジルアミノプリン)、GA₃(ジベレリンA₃)、IBA(3-インドール酪酸)の3種類を組み合わせたものとし、試料数は各12本ずつの計60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下で培養した。

3. 調査方法

初代培養1～4日後に同じ種類の培地に継代し、培養開始から29日～41日後に腋芽の状態を調べた。

〔結果〕

表 - 4 に各殺菌処理区別の培養期間、コンタミネーション数を示す。

まず、コンタミネーションは塩化第二水銀を使用しなかった処理区で多く見られたが、他の処理区は生じて1本程度で、あまりみられなかった。腋芽は鱗片を剥く冬芽と異なり、材料をそのまま培養する形であるため、殺菌剤の影響がでやすいと考え、初代培養1～4日後に切り口を切り戻して継代を行ったが、腋芽に反応はみられず、しばらくすると切り口や腋芽部分から褐変し始め、やがて枯死していった。

以上の結果から、今回の試験で行った腋芽に対する殺菌方法は、雑菌にたいしてはある程度有効だったが、同時に腋芽本体にも有害であることがわかった。腋芽本体への影響を最小限にして、雑菌を効果的に減少させるような採取時期も含めた殺菌法の検討が必要であると考えられた。

表-1 採取日

処理区	採取日
①	2000. 5. 24
②	2000. 5. 25
③	2000. 5. 29
④	2000. 6. 2
⑤	2000. 6. 5

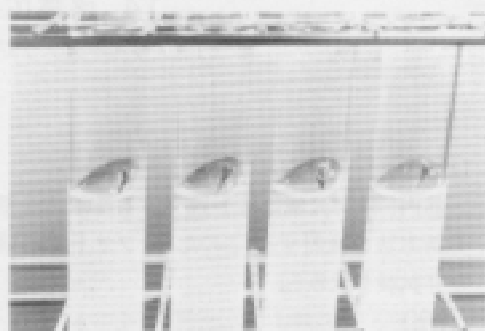


図-1 殺菌処理後、培地に植えられた萌芽

表-2 各処理区における殺菌方法

処理区	殺菌方法
①	ベンザル30分、エタノール30秒、アンチホルミン10分、昇汞20分
②	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
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、昇汞10分
④	ベンザル35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10分
⑤	ベンザル40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10分

※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 各処理区での使用培地

処理区	基本培地成分	添加植物ホルモン量	試料数
①	WPM	GA ₃ 5.0mg/l, BAP0.5mg/l	12
②	WPM	GA ₃ 5.0mg/l, BAP1.0mg/l	12
③	WPM	GA ₃ 5.0mg/l, BAP0.1mg/l	12
④	WPM	GA ₃ 5.0mg/l, BAP0.5mg/l, IBA0.1mg/l	12
⑤	WPM	GA ₃ 5.0mg/l, BAP0.5mg/l, IBA0.5mg/l	12
計			60

※GA₃=ジベレリンA₃、BAP=6-ベンジルアミノプリン、IBA=3-インドール酪酸

表-4 各処理区の培養期間と培養期間中のコンタミネーション数

処理区	培養期間	コンタミネーション数	試料数
①	41日	1	12
②	40日	11	12
③	36日	0	12
④	32日	0	12
⑤	29日	1	12