

7. 稀少植物増殖試験

(1)シダレアカシデ冬芽組織培養試験

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」は老齡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。「幸神神社のシダレアカシデ」は文化財保護法の規定により採取に制限があるため、これまでは多量の試料が簡単に入手できる近縁のアカシデ種子を使い培地条件等の基礎試験を行ってきた。現在、文化庁の現状変更許可を受けているので、アカシデ種子で得られた培地条件等を基に、今回初めて「幸神神社のシダレアカシデ」の冬芽を採取して組織培養試験を行ったので報告する。

〔方法〕

1. 材料の調整と培養方法

1999年2月23日にシダレアカシデの冬芽を含む小枝を採取した。流水でゴミ、埃等を落とした後、冬芽を一芽ずつ含んだ小片に切り分け、塩化ベンザルコニウム0.1%溶液で20分間攪拌し滅菌水で洗浄した。その後、滅菌したピンセットとメスで鱗片を取り除きエタノール70%溶液で45分間攪拌し、最後にツイーン20を数滴滴下した塩化第二水銀0.1%溶液で10分間攪拌し7回滅菌水で洗浄した。これらの冬芽を小片から切り離し培地へ植えた。29日後に継代した。

2. 培地と培養条件

初代の培地は表-1のような、WPM培地にBAP(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)を組み合わせた3培地を用い、2代目はWPM培地にBAPを0.1mg/l、NAA(α -ナフタレン酢酸)を0.02mg/l添加したものをを用い、試料数は各培地20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°C20分間高圧滅菌した。なお、寒天添加前にWPM培地は、pH5.4に調整した。これらの培地はすべて25°C、16時間日長の恒温条件で培養した。

3. 調査方法

初代培養28日後に冬芽の状態を調べた。

〔結果〕

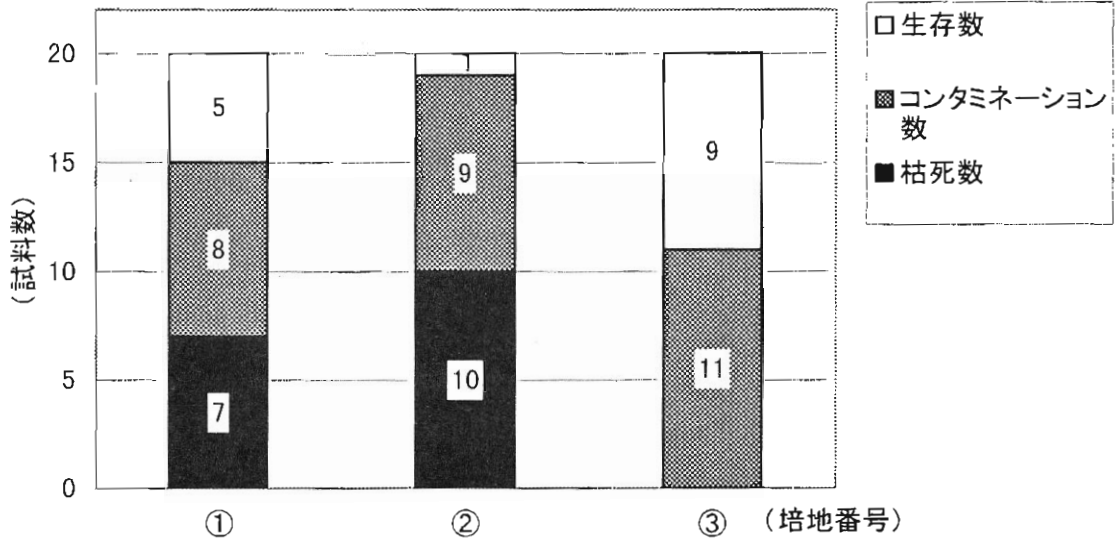
図-1に各培地の初代培養28日後の状態を示したが、すべての試料を合わせた枯死数は17本で約28%、コンタミネーション数は28本で約47%となり、28日後で生存した冬芽は25%となった。生存数が少ないことは殺菌過程で薬害が生じたことや、うまく殺菌できなかったことが原因とも考えられる。培地②はほとんどが枯死またはコンタミネーションとなったが、培地③は約半数がこの時点で生存していた。生存した冬芽の状態は、シュートにはならず、葉のみを展開するという形になった。なお、冬芽の中心部は枯れて伸長せず、その周囲の部分が葉となるだけであった。

図-2に生存した冬芽の状態を示す。培地①も③も生存した冬芽はほとんど複数枚の葉を展開し、特に培地③では5枚以上の葉を展開した冬芽が7本となった。その後、生存していた冬芽を初代培養29日後、枯死した部分を取り除き、葉部分を2代目培地に継代したが、すべて枯死する結果となった。

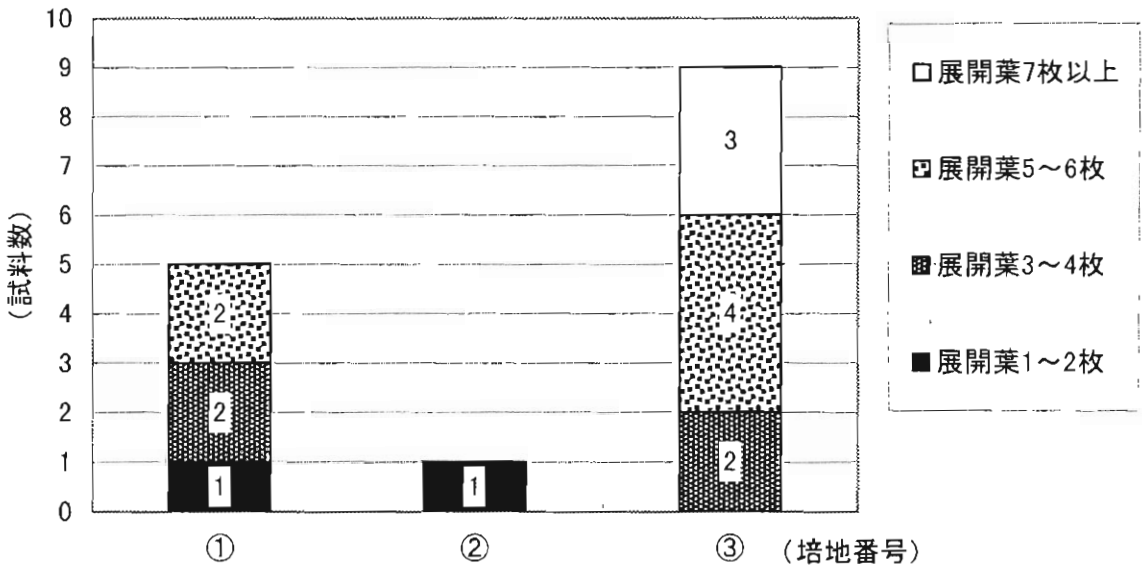
以上の結果から、初代培養で生存できた冬芽は葉を展開することがわかった。これまで、簡単な処理により殺菌が可能なアカシデ種子から得られた無菌個体を用いて試験を行ってきたため、殺菌方法の詳細な検討は行わずに、生長するための培地条件等の検討を主に行ってきた。よって、今後、シダレアカシデの増殖のためには殺菌方法も含めた培養条件の検討が必要であると考えられた。

表一 初代培地分類表

培地番号	基本培地成分	添加植物ホルモン量	試料数
①	WPM	BAP0.1mg/l, GA ₃ 5.0mg/l	20
②	WPM	IBA1.0mg/l, GA ₃ 5.0mg/l	20
③	WPM	BAP1.0mg/l, IBA0.1mg/l	20



図一 各培地における初代培養28日後の冬芽の状態



図二 各培地における初代培養で生存した冬芽の状態