

## 9. 稀少植物増殖試験

### (3)アカシデ腋芽組織培養試験(培養条件の検討)

佐藤晶春

#### 〔目的〕

前項「シダレアカシデ冬芽組織培養試験」に同じ目的とする。これまで、アカシデ種子についての組織培養試験では培養室内における順化過程まで行ない、種子由来の培養苗までは得ることができた。同一の形質を持った個体を増殖させるには、腋芽や冬芽による培養方法の確立が重要となり、シダレアカシデ増殖のためにはこれらを用いて試験を行う必要がある。今回、アカシデの種子培養から得られた比較的清潔な苗の腋芽を使い、シュート増殖に適した培養条件の検討を行ったので報告する。

#### 〔方法〕

##### 1. 材料の調整と培養方法

農林水産省森林総合研究所貯蔵(千代田試験地採取)の1995年産種子の培養から得られたアカシデ幼苗(温度25℃湿度70%16時間日長の培養室内において順化中)の腋芽を使用した。順化開始後159日目の11個体から枝を採取し、腋芽1個を含む節片に切り分け葉を取り除き殺菌を行った。塩化ベンザルコニウム0.1%溶液で5分間、エタノール70%溶液で20秒間、ツイーン20を数滴滴下した有効塩素1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で5分間攪拌し、6回滅菌水で洗浄した。その後、滅菌したメスで傷んだ切り口を切断し、培地へ植え込んだ。33日後、切り戻しを行い継代した。

##### 2. 培地と培養条件

初代、2代目の培地は表-1のようなWPM培地にBAP(6-ベンジルアミノプリン)、GA<sub>3</sub>(ジベレリンA<sub>3</sub>)を添加、または添加しなかったもの4培地を用い、2代目も同じ培地に継代した。試料数は各培地20本ずつの計80本とした。これらの培地にはショ糖2%、寒天0.8%を加え初代は18×180mm、2代目は25×120mm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

2代目培養28日後に、枯死・コンタミネーション数、シュート数、シュート長を調べた。

#### 〔結果〕

枯死・コンタミネーションは生じなかった。

図-1で各培地における平均シュート数を示した。BAP、GA<sub>3</sub>を添加しなかった培地①は腋芽が動かなかつたものが8個体見られ、それ以外もシュートはすべて1本しか生じなかった。BAPを1.0mg/l添加した培地③のシュート数が一番多くなったが、培地③④では、シュート長が短いものが多くなる傾向にあった。

次に、各個体におけるシュートの内の、最長シュート1本の平均長を図-2に示した。培地①は0.48cmとほとんど伸長しなかった。培地②のシュート長が一番長く、培地③④のようにBAP濃度が高くなるにつれ、短くなった。

以上の結果から、GA<sub>3</sub>の添加はシュートの伸長に、BAPの添加はシュートの増加に効果があると考えられた。今後、発根条件について検討していく必要がある。今回は培養室内のアカシデ苗を用いたので、殺菌処理が容易であった。今後、屋外のアカシデ成木からの試料を用いて、殺菌方法の検討をする必要もある。

表-1 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	なし	20
②	WPM	GA <sub>3</sub> 5.0mg/l, BAP0.5mg/l	20
③	WPM	GA <sub>3</sub> 5.0mg/l, BAP1.0mg/l	20
④	WPM	GA <sub>3</sub> 5.0mg/l, BAP2.0mg/l	20

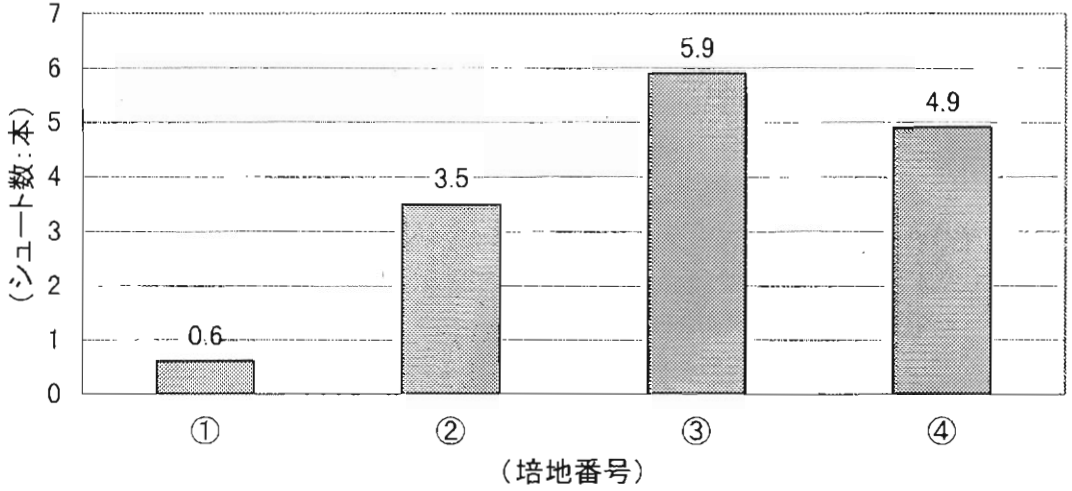


図-1 各培地における平均シュート数の比較

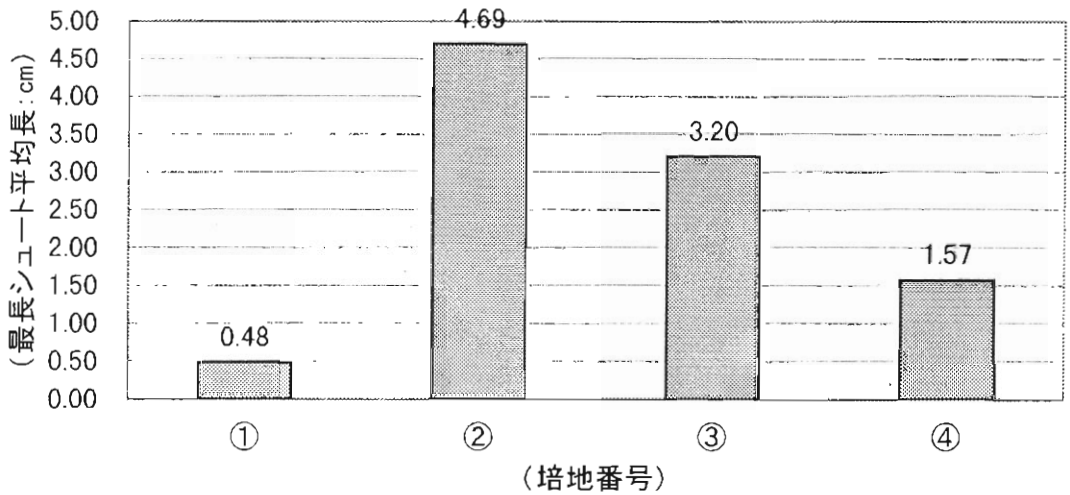


図-2 各個体のシュートの内の最長シュート1本の平均長の比較