

9. 稀少植物増殖直試馬兪

(2) アカシデ種子組織培養試験 (BAP濃度条件の検討)

佐藤晶春

〔目的〕

前項「(1) アカシデ種子組織培養試験 (培地条件の検討)」(以下、前項(1))と同じく、シダレアカシデ増殖への基礎データを得ることを目的とする。今報告では、前項(1)の結果を基にアカシデのシュート増殖を目指して、WPM培地を用いた時の詳細なBAP濃度条件の検討を行う。

〔方法〕

1. 材料の調整と培養方法

前項(1)では材料にバクテリアと思われる汚染が多く見られたため、殺菌処理の一部を変更した。

農林水産省森林総合研究所貯蔵(茨城県新治郡千代田町千代田試験地採取)の1995年産種子を約8日間水に浸したあと、塩化ベンザルコニウム0.1%溶液で10分間攪拌し水道水で洗浄した。次に、エタノール70%溶液で3分間攪拌し1回滅菌水で洗浄後、塩化第二水銀0.1%溶液で10分間攪拌し5回滅菌水で洗浄した。その後、滅菌したメスで種子を切断して種皮をむき、胚を培地へ置床した。35日後生長したシュートから根を切取り継代し、次に50日後に継代した。

2. 培地と培養条件

前項(1)では低濃度のBAPを添加したWPM培地が適しているとしたため、今回はWPM培地にBAPを各0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.6mg/ℓ添加した5培地を用い、BAP低濃度時におけるより詳細な最適条件を検討した。試料数は各培地25本ずつの計125本とした。2代目以降も同培地を用いた。これらの培地にはショ糖2%を加えpH5.4に調整した後、寒天0.8%を添加しオートクレーブを用いて121℃20分間高圧滅菌した。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

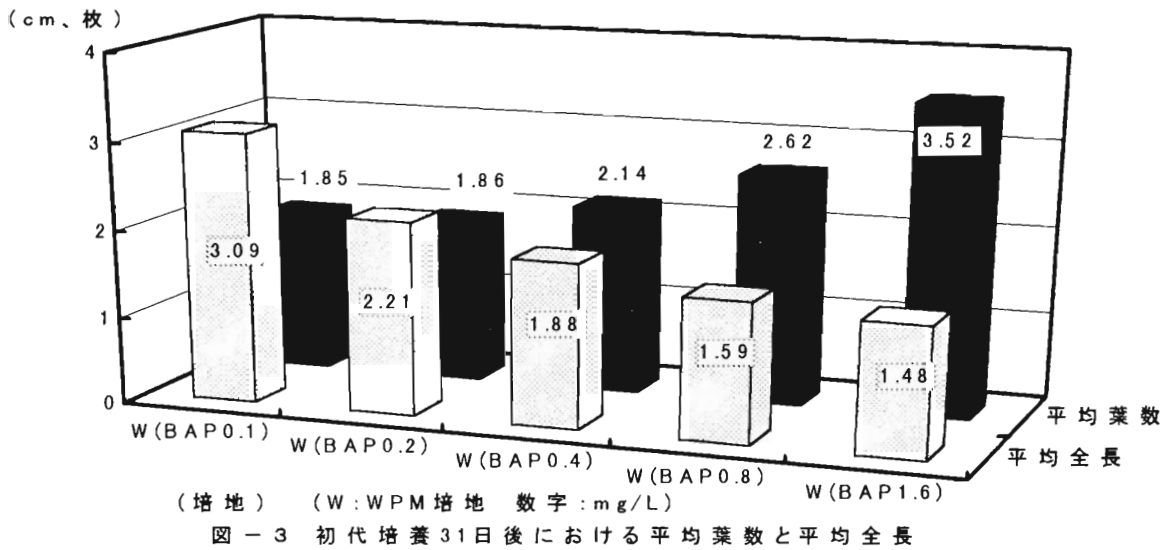
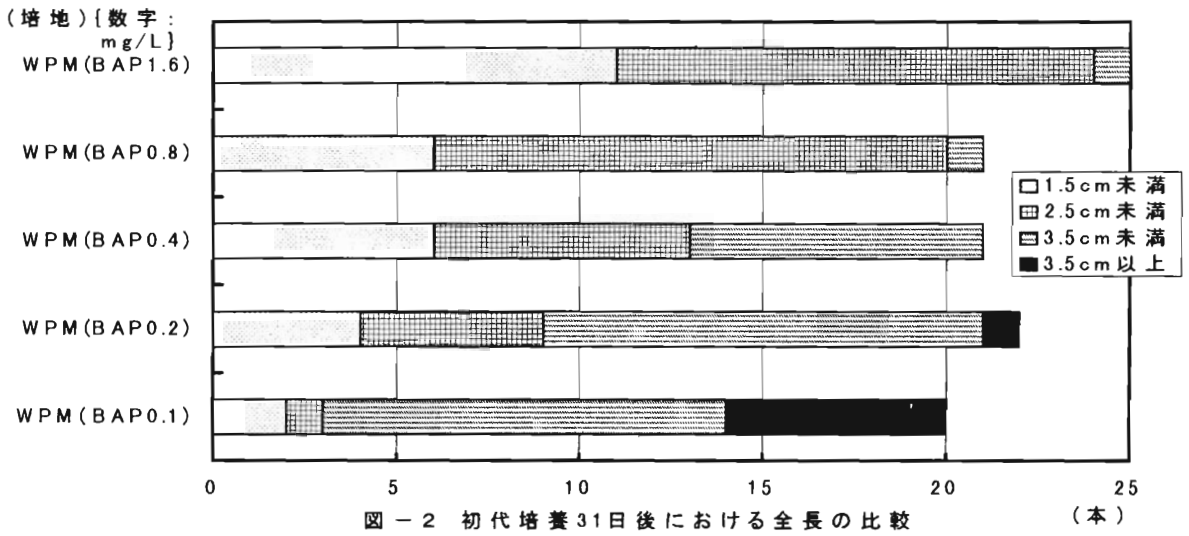
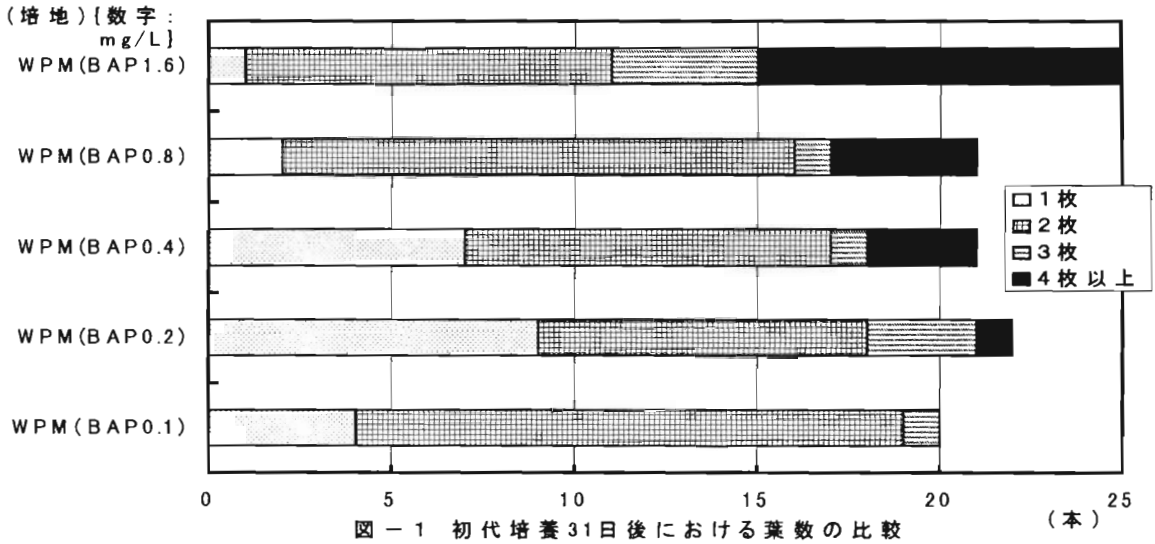
初代培養開始31日後にコンタミネーション数、葉数、シュート全長を測定した。3代目培養30日後に葉数を測定した。

〔結果〕

初代培養31日後のコンタミネーションは125本中12本となり9.6%の発生率となった。反応の無いものや枯死したものは4本あり2代目の培地に移したものは109本となった。今回バクテリアと思われる白濁はほとんど見られなかったことから、殺菌方法は前項(1)よりも良好であることがいえる。

コンタミネーションや枯死等になった培地以外はすべてがシュートとなった。これは前項(1)で低濃度のBAPを添加したWPM培地が、シュート形成に対し有効であると示したとおりの結果となった。

図-1に初代培養31日後の葉数の比較を示す。BAP濃度が0.1~0.8mg/ℓでは、葉数が1から2枚の培地が70%を越えており、葉数は少ない傾向にある。しかし、BAP濃度が高くなるにつれ葉数の多い培地が増え1.6mg/ℓでは50%以上が3枚以上の葉数となって



いる。葉数とは対照的に、葉の大きさは濃度が高くなるにつれ小さくなっていった。

図-2に同じく全長の比較を示す。BAPの量が多くなるに従い、全長の短いものが多かった。

これらの平均葉数と平均全長を比較したものが、図-3である。平均葉数はBAP濃度に比例しているが、平均全長は反比例した。

この後、初代培養35日後に根部を切り取りシュートを同様の培地に移植し、2代目培養50日後に切り戻し等を行わず同様の培地に移植した。3代目培養30日後の生長状況を図-4~6に示す。

図-4では、葉数の比較を行った。すべての培地において、70%以上が4枚以上の葉を展開させた。BAP濃度が0.1~0.4mg/lまでは、4~6枚の葉数が多いが0.8~1.6mg/lでは7枚以上の葉数が多くなっている。葉の大きさは逆にBAPが高濃度になるにつれ小さくなる傾向にあり、展開せずに縮んでいるものや密集して展開しているものが多かった。

図-5に初代培地から3代目培地における葉の増加数を示した。わずかながら、葉が枯れるものや増加しないものが見られたが、BAP1.6mg/l以外は大きな差はなく、複数枚の葉の増加が多く見られた。BAP1.6mg/lはほとんどが5枚以上の葉の増加となった。

図-6では、平均葉数と平均葉増加数を比較した。BAP濃度が0.4mg/lまでは大きな差はなく、その後BAP濃度が増えるにつれ葉数、葉増加数ともに増加した。

3代目培養においては、シュートの伸長生長は一部のものに見られたものの、葉は一部から密集して展開するものが多く、ほとんどの培地で伸長生長は見られなかった。さらに2代目から3代目へ移植時に基部の切り戻しを行わなかったため、基部にカルス状の肥大部が見られ、BAP濃度が高くなるにつれ大きくなる傾向があった。なお、BAP濃度0.1~0.2mg/lのいくつかの培地において、根の伸長が見られた。

以上の結果から次のことが考えられた。低濃度のBAPを添加したWPM培地は、葉の展開や増加には効果があると考えられる。しかし、低濃度でもBAP濃度が0.8mg/lを越える程度から伸長生長のさらなる鈍化、葉の急激な増加や縮小化が見られたことから、これらの培地はシュート増殖に対しての最適培地ではないとも考えられる。よって、今後葉の増加と共にシュートの伸長生長を目指して、他の培地成分や植物ホルモン等による培養条件の検討を進めていく必要がある。

