

老 齡 貴 重 木 の 組 織 培 養 II

—ケヤキ老齡木の冬芽培養—

茂木靖和・川尻秀樹

目	次
はじめに	17
2 結果と考察	18
1 試験方法	17
2.1 頂芽、腋芽別培養試験	18
1.1 材料	17
2.2 T.G-19低濃度培養試験	19
1.2 頂芽、腋芽別培養試験	18
2.3 低濃度試験後の継代培養 試験	19
1.3 T.G-19低濃度培養試験	18
2.4 T.G-19高濃度培養試験	20
1.4 低濃度試験後の継代培養 試験	18
2.5 発根試験	21
1.5 T.G-19高濃度培養試験	18
まとめ	22
1.6 発根試験	18
引用文献	22
1.7 培養条件と基本培地	18

はじめに

本県の植生は多種多様に及んでおり、全国的にも有数な樹木の遺伝資源の宝庫である。特にケヤキは日本の代表的な有用広葉樹であり、本県の伊吹・養老山系は、全国的にも最も品質の良い銘木が産出されることで有名である。ケヤキは建築材、家具材等に利用されるが、特に流通過程でいわれる心材色の赤いアカケヤキや柁のある材は、銘木的価値が高いことから高値で取り引きされている。しかし、こうした希少な銘木は老齡であり、なかには衰弱の著しいものが多く、資源量の減少が著しい。

一般にケヤキの増殖は実生で行われているが(1)、材質は遺伝的要因によるところが大きいといわれており、高値で取り引きされるような優良個体を確実に得るには、栄養繁殖が有効であると考えられる。しかし、老齡なケヤキの挿し木による増殖は難しいことから(1)、組織培養による増殖が検討されている。ケヤキの組織培養は、組織的に若い材料を用いた培養例があるが(3、4)、一般に老齡木を材料とした場合、培養が困難であると報告されている(3)。

筆者らは、郡上郡白鳥町白鳥のケヤキ母樹林内に生育する樹齡約1300年、幹周610cmのケヤキ優良木(以下白鳥ケヤキ)を材料として組織培養による増殖を試みている(2)。前報で、サイトカイニンではBAPよりもTG-19の方が増殖に有効であること、TG-19の濃度は0.2ppmでシュート伸長量が大きく、1.0ppmで不定芽数が多いことを報告した。今回は、継代培養における、供試組織の違い、TG-19濃度を前報より細かく検討したので報告する。

なお、本試験で供試した新サイトカイニンを提供して頂いた、三菱ガス化学(株)新潟研究所の丸山岳人氏に心から謝意を表す。

また、本報告は国庫補助事業である「優良木からの種苗増殖技術の開発」の一環として研究開発したものである。

1 試 験 方 法

1.1 材料

供試材料は6代(全培養日数132日)以上経過した継代培養途中(2)の組織で、頂芽または腋芽を

含む3~10mmのシュートに切り分けて以下の試験を行った。

1.2 頂芽、腋芽別培養試験

TG-19の濃度を0.2ppmとし、組織の違い(頂芽・腋芽別)によるシュート伸長量、カルス成長量、シュートの下部に形成された芽(以下不定芽)の数を比較した。なお、不定芽は多くなると全部を確認するのが困難となるので、5個以上は5個とカウントし平均を求めた。また、TG-19の化学名は、6-[2-(N-メトキシ-N-メチルアミノ)エチル]アミノプリンである。

1.3 TG-19低濃度培養試験(以下低濃度試験)

TG-19の濃度を0.05ppm、0.1ppm、0.2ppmの3水準とし、シュート伸長量、カルス成長量、不定芽数、枯死個体数を比較した。

1.4 低濃度試験後の継代培養試験

上記の低濃度試験後、TG-19(0.2ppm)で2代継代培養を行った。そして、低濃度試験1代後と2代後のシュート伸長量、カルス成長量、不定芽数を調査し、低濃度試験におけるTG-19濃度、0.05ppm、0.1ppm、0.2ppmで比較した。

1.5 TG-19高濃度培養試験

TG-19の濃度を0.2ppm、0.5ppm、1.0ppmの3水準とし、シュート伸長量、カルス成長量、不定芽数、枯死個体数を比較した。

1.6 発根試験

先代培養で10mm以上伸長したシュートをホルモンフリーで培養し、その時の発根率を求めた。

1.7 培養条件と基本培地

すべての試験は、温度25℃、16時間日長、照度4,000Luxで培養し、基本培地をWP(3)、サッカロース20g/l、ジェランガム2g/lで行った。

2 結果と考察

2.1 頂芽、腋芽別培養試験

外植体を頂芽、腋芽に分け、2回試験した。各試験の当代培養14日後のシュート伸長量、カルス成長量、不定芽数を表-1に示した。

シュート伸長量は、1回目の頂芽が8.1mm、腋芽が7.4mm、2回目の頂芽が6.8mm、腋芽が6.2mmで、2回とも組織の違いによる差は判然としなかった。

カルス成長量は、1回目の頂芽が2.4mm、腋芽が1.9mm、2回目の頂芽が2.4mm、腋芽が2.8mmで、2回とも組織の違いによる差は判然としなかった。

不定芽数は、1回目の頂芽が0.3個、腋芽が0.1個、2回目の頂芽が0.7個、腋芽が0.5個で、2回とも組

表-1 頂芽、腋芽の培養状況

回数	1回				2回			
	本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数	本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数
頂芽	10本	8.1(0~19)	2.4(1~4)	0.3(0~2)	23本	6.8(0~18)	2.4(0~4)	0.7(0~5)
腋芽	14本	7.4(0~18)	1.9(0~3)	0.1(0~1)	13本	6.2(0~16)	2.8(0~4)	0.5(0~2)

注) 培地は、WP、TG-19 0.2ppm、サッカロース20g/l、ジェランガム2g/l。

シュート伸長量、カルス成長量の単位はmm、不定芽数の単位は個。

裸書きは平均、()内は最小~最大。培養日数は1回、2回とも14日。

表-2 TG-19低濃度培養状況

培養日数		15日			
TG-19濃度	供試本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数	枯死個体数
0.05ppm	23本	1.5(0~4)	1.3(0~2.5)	0	15個
0.1 ppm	23本	2.8(0~18)	1.6(0~3.5)	0	11個
0.2 ppm	22本	4.1(0~11)	1.9(0~3.0)	0.5 (0~2)	4個

注) 基本培地はWP、サッカロース20g/l、ジェランガム2g/l。
シュート伸長量、カルス成長量の単位はmm、不定芽数の単位は個。
裸書きは平均、()内は最小~最大。

織の違いによる差は判然としなかった。しかし、同一条件で培養したにもかかわらず、頂芽、腋芽とも2回目は1回目の2倍以上であった。

以上のことから、組織の違いによる増殖の差はほとんどないと考えられる。

2.2 TG-19低濃度培養試験

当代培養15日後のシュート伸長量、カルス成長量、不定芽数、枯死個体数を表-2に示した。

シュート伸長量は、0.05ppmが1.5mm、0.1ppmが2.8mm、0.2ppmが4.1mmであった。このことから、TG-19の濃度が0.05ppm~0.2ppmの範囲では、TG-19の濃度を高くすることによりシュート伸長量が大きくなると考えられる。

カルス成長量は、0.05ppmが1.3mm、0.1ppmが1.6mm、0.2ppmが1.9mmであった。このことから、TG-19の濃度が0.05ppm~0.2ppmの範囲では、TG-19の濃度を高くすることによりカルス成長量が大きくなると考えられる。

不定芽数は、0.05ppmと0.1ppmが0個、0.2ppmが0.5個と、TG-19の濃度が0.1ppm以下では発生しなかった。

枯死個体数は、0.05ppmが15個、0.1ppmが11個、0.2ppmが4個であった。このことから、TG-19の濃度が0.05ppm~0.2ppmの範囲では、TG-19の濃度を高くすることにより枯死個体数が少なくなると考えられる。

2.3 低濃度試験後の継代培養試験

低濃度試験1代後と2代後の継代培養における、シュート伸長量、カルス成長量、不定芽数を表-3に示した。なお、1代後の培養日数は14日、2代後の培養日数は16日である。

1代後のシュート伸長量は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時2.8mm、0.1ppmの時5.8mm、0.2ppmの時9.2mmであった。2代後のシュート伸長量は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時4.3mm、0.1ppmの時6.1mm、0.2ppmの時8.8mmであった。1代後、2代後とも低濃度試験のTG-19濃度が高くなるに従って、シュート伸長量が大きくなる傾向にあった。このことから、低濃度試験がシュート伸長量に対して2代後の継代培養にも影響を及ぼすことがわかった。また、その影響は低濃度試験のTG-19濃度が低いほど大きいことがわかった。なお、2代後は1代後より各濃度間のシュート伸長量の差が小さいことから、代を重ねるに従って、低濃度試験の影響が薄れると考えられる。

1代後のカルス成長量は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時2.1mm、0.1ppmの時3.1mm、0.2ppmの時3.4mmであった。2代後のカルス成長量は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時2.5mm、0.1ppmの時2.5mm、0.2ppmの時3.0mmであった。1代後は、低濃度試験のTG-19濃度が高くなるに従って、カルス成長量が大きくなる傾向にあった。しかし、2代後は、TG-19濃度とカルス成長量との関係は判然としなかった。このことから、低濃度試験がカルス成長量に対して1代後の継代培養に影響を及ぼ

表-3 TG-19低濃度培養がその後の継代培養に及ぼす影響

継代数	1代後				2代後			
培養日数	14日				16日			
濃度	本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数	本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数
0.05	8本	2.8(0~7)	2.1(0~4)	0.5(0~2)	10本	4.3(0~11)	2.5(0~4)	0.1(0~1)
0.1	14本	5.8(0~14)	3.1(2~5)	1.1(0~5)	32本	6.1(0~19)	2.5(2~4)	0.8(0~5)
0.2	19本	9.2(0~22)	3.4(2~6)	1.2(0~5)	45本	8.8(0~26)	3.0(0~6)	0.8(0~5)

注) 培地は、WP、TG-19 0.2ppm、サッカロース20g/l、ジェランガム2g/l。
濃度の単位はppm、シュート伸長量、カルス成長量の単位はmm、不定芽数の単位は個。
裸書きは平均、()内は最小~最大。

すことがわかった。

1代後の不定芽数は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時0.5個、0.1ppmの時1.1個、0.2ppmの時1.2個であった。2代後の不定芽数は、低濃度試験のTG-19濃度が0.05ppmの時0.1個、0.1ppmの時0.8個、0.2ppmの時0.8個であった。1代後、2代後とも低濃度試験のTG-19濃度が0.1ppmと0.2ppmの時は差が無く、0.05ppmの時はそれらの半数以下であった。このことから、TG-19の濃度が0.05ppmと特に低い時は、不定芽数に対して2代後の継代培養にも影響を及ぼすことがわかった。

以上の結果や「2.1 頂芽、腋芽別培養試験」の1回目と2回目の不定芽数が大きく異なることから、同一条件で培養を行っても、直前までの培養条件や全培養日数等の違いが、増殖に影響を及ぼすと考えられる。

2.4 TG-19高濃度培養試験

当代培養25日後のシュート伸長量、カルス成長量、不定芽数、枯死個体数を表-4に示した。

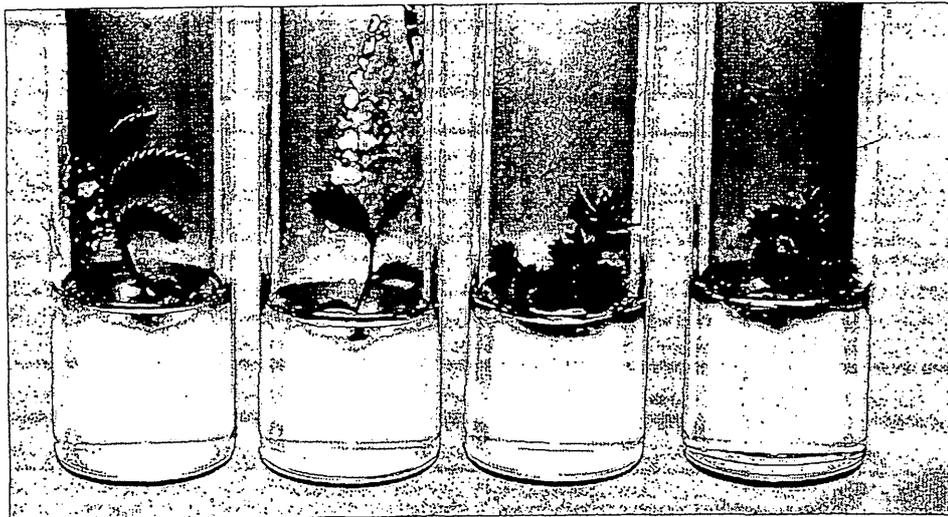
シュート伸長量は、0.2ppmが19.3mm、0.5ppmが16.2mm、1.0ppmが5.3mmであった。このことから、TG-19の濃度が0.2ppm~1.0ppmの範囲では、TG-19の濃度を高くすることによりシュート伸長量が小さくなると考えられる。

カルス成長量は、0.2ppmが3.7mm、0.5ppmが4.9mm、1.0ppmが4.0mmと、TG-19の濃度による差は判

表-4 TG-19高濃度培養状況

培養日数	25日				
TG-19濃度	供試本数	シュート伸長量	カルス成長量	不定芽数	枯死個体数
0.2 ppm	15本	19.3(0~42)	3.7(1.5~6)	1.4(0~4)	1個
0.5 ppm	15本	16.2(0~26)	4.9(1.5~9)	3.4(0~5)	1個
1.0 ppm	15本	5.3(0~15)	4.0(1.5~8)	4.5(0~5)	2個

注) 基本培地はWP、サッカロース20g/l、ジェランガム2g/l。
シュート伸長量、カルス成長量の単位はmm、不定芽数の単位は個。
裸書きは平均、()内は最小~最大。



TG-19 (0.2ppm) TG-19 (2.0ppm)
 写真-1 継代培養状況

然としなかった。

不定芽数は、0.2ppmが1.4個、0.5ppmが3.4個、1.0ppmが4.5個であった。このことから、TG-19の濃度が0.2ppm~1.0ppmの範囲では、TG-19の濃度が高くなるに従って不定芽数が増えると考えられる。

枯死個体数は、0.2ppmと0.5ppmが1個、1.0ppmが2個であった。このことから、TG-19の濃度が0.2ppm~1.0ppmの範囲では、0.2ppm未満の濃度のように枯死個体数が増えないと考えられる。

以上の結果から、前報のとおりシュート伸長量は0.2ppmで大きく、不定芽数は1.0ppmで多いことが再確認された。(写真-1参照)また、0.5ppmは、シュート伸長量、不定芽数とも0.2ppmと1.0ppmの間にあるが、シュート伸長量は0.2ppmにわずかに劣る程度で、不定芽数は0.2ppmよりも1.0ppmに近いことから、効率的な増殖を考えた時有望な濃度と考えられる。

2.5 発根試験

発根試験は7回行い、当代培養34~41日後の発根結果を表-5に示した。

発根割合は最も高い時でも10個体中3個体と極めて低く、中には発根個体が得られない試験もあった。最終でも、最も高い時が当代培養77日後の10個体中6個体であった。また、早い個体は当代培養約14日後から、遅い個体は当代培養70日以上過ぎてから発根した。

表-5 発根試験結果

回数	1回	2回	3回	4回	5回	6回	7回
培養日数	35日	34日	38日	39日	35日	41日	37日
供試個体数	7	10	10	25	10	42	16
発根個体数	0	2	3	2	0	6	1

注) 基本培地WP、ホルモンフリー、サッカロース20g/ℓ、
 ジェランガム2g/ℓ。

これらの結果から、ホルモンフリー培地では高い発根率が得られないことが考えられる。発根培養を同一条件で行っても各回の発根率は異なり、発根個体でも発根までの日数に個体差が大きい。従って、当代培養だけでなく、それ以前の培養条件や培養個体の生育状態を検討することにより、ホルモンフリー培地でも発根率を高めることができるかもしれない。

写真-2は、発根状況を示したものである。発根前は、シュート伸長がほとんど認められなかった。シュート伸長は、発根後一次根数が増えるか二次根が発生することにより始まるが多かった。一次根数の増加や二次根の発生が認められない個体は、シュートが伸長せず枯死することもあった。

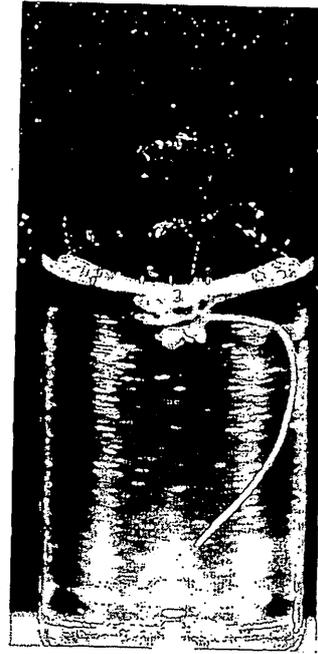


写真-2 発根状況

ま と め

1. TG-19の濃度を0.2ppmで継代培養する時、組織（頂芽・腋芽）の違いによるシュート伸長量やカルス成長量にほとんど差はなかった。
2. TG-19の濃度を0.05ppm～0.2ppmの範囲で継代培養する時、TG-19濃度が高くなるに従ってシュート伸長量とカルス成長量は大きく、不定芽数は多く、枯死個体数は少なくなった。
3. TG-19低濃度培養（0.05ppm～0.2ppm）がその後の継代培養の増殖へ及ぼす影響は、当代のTG-19濃度が低いほど大きく、2代後にも及ぶことがわかった。また、代を重ねるに従って、TG-19低濃度培養の影響が薄れる傾向にあった。
4. 当代の継代培養が同一であっても、直前までの培養条件や全培養日数等の違いにより、増殖に差が生じた。
5. TG-19の濃度を0.2ppm～1.0ppmの範囲で継代培養する時、TG-19濃度が高くなるに従ってシュート伸長量は小さく、不定芽数は多くなることが再確認された。
6. TG-19（0.5ppm）は、効率的な増殖を考えた時有望な濃度と考えられる。
7. 発根率は、ホルモンフリーで培養した時低かった。また、同一条件で行っても各回の発根率が大きく異なった。
8. 発根するまでの当代培養日数に個体差が大きかった。

引 用 文 献

- (1) 町田英夫（1974）さし木のすべて.167pp,誠文堂新光社,東京.
- (2) 茂木靖和・川尻秀樹・丸山岳人（1996）ケヤキの組織培養.44回日林中支論:69～70
- (3) 最新バイオテクノロジー全書編集委員会編（1989）木本植物の増殖と育種.132～265,農業図書,東京.
- (4) 酒谷昌孝・天野孝之（1987）組織培養によるケヤキ増殖の試み.日林関西支講38:239～241