

コナラ属成木の組織培養による増殖 (II)

— 混生の見られない林のコナラ、ミズナラの増殖 —

千 木 容

In vitro plantlet regeneration from axillary buds of an adult tree of Genus *Quercus* (II)

In vitro propagation from axillary buds of *Quercus serrata* and *Q. crispula*

I はじめに

石川県では、コナラ (*Quercus serrata* Thunb.) やミズナラ (*Q. crispula* Blume) は、キノコの原木として利用されている重要樹種である。県内のコナラ属の分布する標高は、コナラが標高600m以下、ミズナラが100~1,200mである。コナラ属のクローン増殖は、挿し木では難しく、接ぎ木では遅発性の不親和が見られ、選抜された優良個体の増殖ができない。そこで、組織培養による成木からのクローン増殖法が有利と考えられる。前報(4)では、コナラ、ミズナラが混生する石川県林業試験場有林内の林分から、両種およびその雑種であるミズコナラ (*Q. serrata* × *Q. crispula*) を採取し組織培養を行った。その時の種の判定は、染郷ほか(6)による花粉母細胞の減数分裂の調査結果と葉形、樹皮などの外観上の特徴を考慮して選んだが、コナラまたはミズナラとして選んだ個体にもお互いの影響がないとは言い切れなかった。そこで本報では、コナラ、ミズナラの混生が見られない、穴水町のコナラ林、および尾口村、白峰村のミズナラ林から試料を採取し組織培養を行い、その増殖過程に種および個体レベルでの違いが認められたので報告する。

本研究は、地域バイオテクノロジー研究開発促進事業「組織培養による優良個体の増殖技術の開発」で実施したものである。研究を進めるにあたってご指導をいただいた方々に厚く御礼申し上げる。

II 試験方法

供試したコナラ、ミズナラの産地、林令等は表-1に示した。採取した枝または幹は、伊東・松尾(1)の方法に準じ、およそ30cmの長さの丸太に切

り分けて、1日16時間約3,000lxの蛍光灯照明下の湿度 $50 \pm 10\%$ 、温度 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ の恒温室内で水ざしして萌芽枝を発生させた。萌芽枝が、10~20cmに伸びたところで採取し、葉を葉柄の中間で切り取り、腋芽が1個付いた長さ1~2cmのY字形の薄片に切り分けたものを、外植体として供試した。外植体の殺菌は、70%エチルアルコールで10秒間、1%次亜塩素酸ナトリウムにツィーン80を0.05%加えたもので3分間、マグネチックスターで攪拌しながら常圧下で行った。殺菌を終えた外植体は、クリーンベンチの中にいれ殺菌水で3回すすぎ、表面殺菌の際に痛んだ茎の基部を殺菌済みのメスで切り落とした後、シュート伸長用培地にさし付けた。シュート伸長用培地にはWP培地(5)にベンジルアミノプリン(BAP)、ジメチルアリルアミノプリン(2iP)を添加した培地を用意し表-2に示した。また、発根培養に用いるシュートを確保するため、シュート形成数が多い培地ではさらに多くの数の試料を培養した。

シュートが1~2cmに伸長した時点で、茎から切り離し発根培養に供試した。培地は、WP培地にナフチル酢酸(NAA)0.002ppmや活性炭を添加したものを用意し、ミズナラの方法(3)に準じて孔径 $0.45 \mu\text{m}$ のメンブランフィルターで、ろ過滅菌したIBA500ppm溶液による浸漬処理を組み合わせ、6処理を設定し表-3に示した。また、一連の試験を通じて、培地には固形化剤としてゼランガム1.2g/l、またはT.C.アガー(ヘーゼルトン社製組織培養用寒天)6.0g/lを添加し、さし付けた試験管などは1日16時間約8,000~10,000lxの蛍光灯照明下で、 $25 \pm 3^\circ\text{C}$ の恒温室内で培養した。

表-1 供試材料の採取地および樹齢、採取部位

供試個体	採取地	標高	推定樹齢(年)	採取部位
コナラ A	鳳至郡穴水町七海県有林	160m	40	側枝
コナラ B	鳳至郡穴水町七海県有林	160m	6*	主幹
コナラ C	鳳至郡穴水町七海県有林	160m	6*	主幹
コナラ D	鳳至郡穴水町七海県有林	160m	6*	主幹
コナラ E	鳳至郡穴水町七海県有林	160m	6*	主幹
ミズナラ A	石川郡尾口村鷲走ヶ岳山頂付近	1,020m	50	側枝
ミズナラ B	石川郡尾口村鷲走ヶ岳山頂付近	1,020m	50	側枝
ミズナラ C	石川郡白峰村大嵐山付近	900m	60	側枝
ミズナラ D	石川郡白峰村大嵐山付近	900m	60	側枝

* : 1984年に35年生のものを伐採し、萌芽したもの

III 試験結果と考察

シュート形成数に対するシュート伸長用培地へのサイトカイニンの影響を表-2に示した。シュートの形成に対するゲルの影響を見ると、ジェランガムゲルの方が形成数が多くなった個体は、コナラ Cとミズナラ Cで、寒天ゲルの方が形成数が多くなった個体は、コナラ Dと Eであった。また、コナラ A、Bとミズナラ Bについては、どちらのゲルが形成数が多くなるという傾向ははっきりとは見られなかった。シュートの形成に対するサイトカイニンの影響を見ると、BAPの方が形成数が多い傾向が見られた個体は、コナラ A、C、D、Eであったが、2 iPについては特に多い傾向が見られた個体はなかった。また、ミズナラ B、Cについては、どちらのサイトカイニンが形成数が多くなるという傾向は見られなかった。

発根に対する NAA と活性炭のシュート発根用培地への添加、および切り口への IBA による浸漬処理の影響を表-3に示した。培地への NAA 添加および IBA による浸漬処理による発根率改善は、コナラ B で効果が認められる傾向があるが、そのほかの個体では認められなかった。発根率が低下する理由の一つには、発根培地へシュートを移した後の褐変枯死があげられる。そこで、茎基部からの褐変に対するシュート発根用培地への活性炭添加量の影響を表-4に示した。活性炭無添

加の培地では、コナラは20~50%の枯死率であったが、ミズナラは全部のシュートが褐変枯死した。前報(4)においても、ミズナラは同様の結果を得ており筆者の方法では、現在のところ活性炭の添加は不可欠と言えよう。それに対して活性炭 3 g / l 添加の培地では、ミズナラの褐変枯死率はミズナラ B、Cにおいて著しく改善されているが、活性炭 10 g / l 添加の培地では、むしろ褐変枯死率が上昇している。また、ミズナラ A、Dについては十分な供試数が得られなかった。BRESSAN ほか(2)は *Rosa hybrida* を供試して 0.3 g / l を適当な活性炭添加量として示しており、ミズナラにおいても適当量があるものと考えられる。コナラは、活性炭の影響がほとんど見られず、ミズナラとは対症的な結果となった。

本報は、混生の見られない林のコナラ、ミズナラの組織培養による増殖を行ったものであるが、シュート伸長用培地に添加するゲル、サイトカイニンは個体によって適当な添加量に違いが見られた。シュートの発根に対する培地への NAA の添加、および切り口への IBA 処理は、コナラ B において IBA 処理の効果が認められる傾向にあったが、他の個体は効果なし、または効果不明であった。シュート褐変に対する活性炭添加の効果はミズナラでは認められたが、コナラでは認められなかった。

表-2 シュート形成数に対するシュート伸長用培地へのゲルおよびサイトカイニン添加の影響

供試個体	ジェランガムゲル							寒天ゲル					
	ホルモンなし	BAP			2 iP			ホルモンなし	BAP			2 iP	
		0.01	0.05	0.25	0.01	0.05	0.25		0.01	0.05	0.25	0.01	0.05
コナラ A	8/10	6/10	0/5	0/5	0/5	0/5	0/0	0/5	6/10	4/10	1/5	0/5	0/5
コナラ B	2/10	10/10	8/10	8/10	0/10	4/10	4/10	2/10	4/10	8/10	8/10	22/10	12/10
コナラ C	4/10	2/10	10/10	4/10	0/5	0/5	0/0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
コナラ D	0/5	1/5	0/5	0/5	1/5	1/5	0/0	0/5	2/10	9/10	6/10	1/5	0/5
コナラ E	8/10	4/10	4/10	2/10	0/5	1/5	0/0	12/10	14/10	16/10	14/10	0/5	0/5
ミズナラ A	0/3	1/3	3/3	1/3	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
ミズナラ B	10/10	8/10	14/10	12/10	8/10	10/10	6/10	0/10	4/10	6/10	18/10	2/10	2/10
ミズナラ C	8/10	12/10	4/10	6/10	9/10	8/10	10/10	0/5	0/5	0/5	1/5	0/5	0/5
ミズナラ D	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/4	4/4	2/4	1/4	0/0	0/0

*表中の数値：形成したシュートの総数/外植体培養数（ホルモン濃度：ppm）

表-3 発根に対するNAAと活性炭のシュート発根用培地への添加および切り口へのIBAによる浸漬処理の影響

供試個体	活性炭無添加		活性炭3 g/l添加				活性炭10 g/l添加	
	NAA無添加		NAA無添加		NAA添加		NAA無添加	
	IBA処理		IBA処理		IBA処理		IBA処理	
	なし	あり	なし	あり	なし	あり	なし	あり
コナラ A	0/3	0/3	0/3	0/4	0/4	0/3	0/3	0/4
コナラ B	0/5	1/5	2/12	5/23	3/10	7/13	5/20	13/24
コナラ C	0/3	0/3	0/6	1/8	0/3	0/4	0/3	0/6
コナラ D	0/5	0/5	0/10	0/17	0/5	0/5	0/6	3/19
コナラ E	0/5	0/5	0/10	1/18	0/5	1/6	0/7	0/22
ミズナラ A	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/2
ミズナラ B	0/5	0/5	0/10	1/24	0/10	1/10	0/19	0/22
ミズナラ C	0/5	0/5	0/10	1/16	0/10	0/10	0/14	0/13
ミズナラ D	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/2

*表中の数値：苗条体の発根数/苗条体の供試数

NAA添加量：0.002 ppm

IBA処理：500 ppm溶液に3秒間

表-4 茎基部からの褐変に対するシュート発根用培地への活性炭添加量の影響

供試個体	活性炭無添加			活性炭3 g/l添加			活性炭10 g/l添加		
	供試数 (本)	褐変枯死数 (本)	褐変枯死率 (%)	供試数 (本)	褐変枯死数 (本)	褐変枯死率 (%)	供試数 (本)	褐変枯死数 (本)	褐変枯死率 (%)
コナラ A	6	2	33	14	3	21	7	1	14
コナラ B	10	2	20	58	12	21	44	7	16
コナラ C	6	2	33	21	7	33	9	2	22
コナラ D	10	5	50	37	22	59	25	14	56
コナラ E	10	3	30	49	14	29	29	15	52
ミズナラ A	2	2	100	4	4	100	3	1	33
ミズナラ B	10	10	100	54	3	6	41	20	49
ミズナラ C	10	10	100	46	15	33	27	21	78
ミズナラ D	2	2	100	4	1	25	3	0	0

引用文献

- (1) 伊東祐道・松尾文昭：39回日林関西支講、25～28、1988
- (2) BRESSAN, P. H., KIM, Y. J., HYNDMAN, S. E., HASEGAWA, P. M., and BRESSAN, R. A., : J. Amer. Soc. Hort. Sci. 107(6) : 979～990, 1982
- (3) 千木 容：日林誌72、143～146、1990
- (4) ————：101回日林論、489～490、1991
- (5) SMITH, M, A, L., and Mc COWN, B. H. : Plant Sci. Lett. 28, : 149～156, 1983
- (6) 染郷正孝ほか：41回日林関東支論、77～78、1990