

Ⅱ 有用林木遺伝資源植物のバイテクによる保存と増殖技術の開発

1. 目 的

マツノザイセンチュウ抵抗性マツ選抜事業で選抜された抵抗性苗木の茎頂、葉束等の器官の一部を培養しクローン苗を作出する技術を確立するとともに、個体再生して得られた幼植物体の各種組織からの大量増殖法を開発する。

2. 方 法

- (1) 実施期間：平成8年度～平成13年度
- (2) 担当者：池本省吾
- (3) 場所：林業試験場
- (4) 材料と方法

① 培地組成の検索（不定胚の作出）

アカマツ未熟胚からエンブリオジェニックカルの誘導に最適な培地組成を検索するため、7月上旬にアカマツ緑色球果から未熟胚を摘出し、DCR培地+2,4-D（ジクロロフェノキシ酢酸）4処理（0～10.0mg／l）の液体培地で振とう培養を行った。

② 大量増殖法の開発

i) さし木試験

マツさし木における発根率を向上させるため、アカマツ培養シュートを、IBA（インドール酪酸）溶液1,000ppm溶液に3日間浸漬後、ホルモンフリーの異なる培地で4週間培養し、その後暗黒条件下のバーミキュライト培地にさし付け、さし穂の発根状況を調査した。

ii) マイクログラフティング（茎頂接ぎ木）試験

有菌条件下でのマイクログラフティングにおける接ぎ穂の活着率を向上させるため、接ぎ木部に殺菌剤（オーソサイド）を塗布処理し、雑菌の抑制効果を調査した。

3. 結 果

(1) 培地組成の検索（不定胚の作出）

4ヶ月経過後のカルス形成率等を調査したところ、0mg：0%、1.0mg：13.3%、5.0mg：33.3%、10.0mg：33.3%で、培地に2,4-Dを添加したものには全てカルの形成が見られた。またエンブリオジェニックカルスの特徴を備えた粒状の黄色カルの発生率は、0mg：0%、1.0mg：13.3%、5.0mg：13.3%、10.0mg：0%と少なかった。（表－1）

(2) 大量増殖法の開発

① さし木試験

IBA浸漬処理したマツ培養シュートをLP培地とMS培地（いずれもホルモンフリー）に挿しつけたところ、2週間経過後には切り口にカルスを生じるものが現れた。4週間経過後のカルスの発生率はLP培地：41.9%、MS培地：20.0%でLP培地の方が成績が良かった。

その後、暗黒条件下で有菌のバーミキュライトにさし付けたが、6ヶ月経過後にはいずれの処理区でも、さし穂のビトリフィケーション（組織のガラス化）が起こり、発根個体は得ることは出来なかった。（表-2）

② マイクログラフティング（茎頂接ぎ木）試験

30日経過後のシュートの雑菌汚染率を調査したところ、無処理区：100.0%、処理区：0.0%で、殺菌剤の散布効果が認められたが、いずれの処理区でも活着個体を得ることはできなかった。

表-1 2,4-D濃度がカルスの形成に及ぼす影響

2,4-D(mg/l)	カルス	黄色カルス	緑化	褐変	無変化	供試数(個)
0.0	0	0	0	14	2	16
1.0	2	(2)	0	10	3	15
5.0	5	(2)	0	9	1	15
10.0	5	0	0	5	5	15

※初代培地: LP+ショ糖20g/l 暗黒条件下で振とう培養(100rpm)

表-2 アカマツ培養シュートのさし木発根に及ぼすIBAの影響

(本)

IBA (mg/l)	さし付け 培 地	in vitro(4週間)					in vivo(6ヶ月間)					供試数	
		カルス	褐変	半褐変	シュート	発根	カルス	ビトリフィケーション	褐変	半褐変	シュート		発根
1000(3days)	LP	13	9	8	1	0	0	13	16	1	1	0	31
1000(3days)	MS	6	11	13	0	0	0	6	24	0	0	0	30

※in vitro: gellangum+ショ糖20g/l+ホルモンフリー

※in vivo: バーミキュライト+0.1%ハイポネックス液