



## 研究トピックス

### オガサワラグワの組織培養

林木育種センター 育種部 近 藤 禎 二

#### 1 はじめに

小笠原諸島（写真 - 1）は東京から南へ約千キロの太平洋上にあります。青い海と空がすばらしいだけでなく、小笠原の動植物には固有なものが多く、世界的に貴重です。高木林を構成する代表的樹種であるオガサワラグワ（写真 - 2）は固有種ですが、個体数が著しく少なく、シマグワとの交雑による遺伝汚染が進んでいます。また、天然更新が困難な状況にあり、絶滅が危惧されています。



写真 - 1 父島の鳥山から見た海岸線



写真 - 2 母島の桑ノ木山のオガサワラグワ

オガサワラグワを保全するためには、現存する純粋な個体のクローンを確保するとともに、純粋な個体を材料として苗木を育成し植栽することが必要です。オガサワラグワはさし木が非常に困難なことから、組織培養による増殖に取り組みました。

#### 2 芽生えを使って培地の条件を決める

これまでにオガサワラグワの組織培養を試みた例がないので、培養する際の培地の条件をまず検討しなければなりません。そのためには培養がやり易いと考えられる若い芽生えを用いて条件を検討し、そ

れを成木に応用するやり方を取りました。

検討する条件としては、培地の種類とそれに添加する植物ホルモンの種類と濃度です。培地の種類については、Murashige and Skoogの培地をまず試してみました。この培地はMS培地と呼ばれ、様々な植物で使われ良い結果が得られています。添加する植物ホルモンの条件については、芽の分化を促進する目的で6 - ベンジルアミノプリンを1、5、25  $\mu$ Mの3段階の濃度で試験しました。その結果、5  $\mu$ Mにおいて芽がほどよく増え、芽からのシュートの伸びもよいことが分かりました。

シュートまで形成させることができれば、つぎは発根です。これまでの広葉樹の組織培養の経験では、発根に用いる培地では養分、特に窒素成分は少ない方がよいことから、MS培地の窒素成分を半分にし、さらに全体を半分に薄めた培地を用い、発根を促進するために植物ホルモンとして3 - インドール酪酸を5  $\mu$ M添加しました。この培地での発根率は約8割で、問題のない発根率といえます。

以上のように、芽生えからの植物体形成はそれほど難しくはなく、そのための培地の条件も明らかにできました。

#### 3 いよいよ成木を用いた組織培養にとりかかる

組織培養の目的は、現在小笠原に生存しているもののコピーをつくることです。ですから、材料は成熟した老木や壮年期の木です。一般に成熟した木にはタンニンなどの物質が多量に含まれており、これが組織培養の際に培地に溶け出したりして成長を阻害したり枯死させたりします。また、野外の材料は表面の微細構造が雨風で壊され、そこに雑菌が入っていることが多く、滅菌が難しいことがあります。小笠原といえば台風の常襲地であり、洋上にあることから雨風が強いので現地で採取した材料で組織培養ができるかどうか当初は不安でした。また、オガサワラグワの芽吹き、シュート伸長、落葉についてのフェノロジーを十分把握していないので、いつ材

料を採取するのも当初は手探りでした。これまでの経験では、秋に落葉し、冬芽を着けるので、これを組織培養に使うのがいいようです。11月中旬になると冬芽からシュートが伸びるので、その前の10月頃が冬芽採取の適期と思われます。採取した枝付きの冬芽を歯ブラシと洗剤を使ってよく洗い、70%エタノールとアンチホルミンを使って滅菌します。その後クリーンベンチの中で実体顕微鏡を使って芽を取り出し、培地の上に置きます。このやり方で芽を取り出すと、タンニンの放出もそれほどひどくなく、雑菌の汚染もあまり見られませんでした。

培地は芽生えを材料にした試験で結果の良かったMS培地に6-ベンジルアミノプリンを5  $\mu$ M添加したものを使いました。植え込んだ芽は培地の養分と植物ホルモンを使いながら伸長してシュートになります。それから後は約1カ月間隔で植え替えます。

次に、シュートを植物体にするには発根させなければなりませんが、ここに大きなハードルがありました。芽生えから誘導したシュートの発根は容易だったのですが、同じやり方で成木から誘導したシュートの発根を試みても発根率は高くありません。なかには全く根が出ないクローンもありました。そこで、日本製紙株式会社が開発した手法を参考に、シュートをまずインドール酢酸の1,000  $\mu$ M水溶液に2時間浸漬し、つぎにIBA 5  $\mu$ Mを添加した4倍希釈のMS培地を含ませたパーミキュライトに挿しつけ、これを炭酸ガス濃度1,000~1,300ppmで培養しました。培養器のフタには、ガス交換を促進するために通気性のあるシールを2個取り付けました。炭酸ガスの効果は非常に大きく、炭酸ガス処理区では、従来法で発根のみられなかったクローンにおいて発根がみられ、従来法で発根が見られたクローンではより多くの根の形成が見られました。また、発根し



写真-3 炭酸ガス施用による発根状況  
左：炭酸ガス施用、右：従来法、根には培地のパーミキュライトが付着しています。

た根の長さについても、炭酸ガス施用による方法の方が優れていました(写真-3)。

#### 4 小笠原での培養苗の順化

組織培養で増殖した苗が果たして小笠原で育つか、最終的にはこれを実証しなければなりません。そこで、培養苗を小笠原に送り、苗畑で順化できるかどうかの実証試験を行いました。一般に培養器の中の湿度は非常に高く、この中で育った培養苗をいきなり外に出すと、まず枯れてしまいます。幸い、発根の際に通気のできるシールを培養器のフタに取り付けていたので、ここから水分が適度に抜けたことにより培養器の中が過湿にならず、通常の培養苗よりも乾燥に強い苗を培養器の中で育てることができました。父島の苗畑での順化では、プラスチック容器に入れて順化を試みましたが(写真-4)、お世話いただいた小笠原野生生物研究会の方の手厚い管理もあり、ほとんど枯らすことなく順化できました。



写真-4 父島の苗畑での培養苗の順化

#### 5 おわりに

オガサワラグワは小笠原諸島の父島、母島、弟島に天然分布していますが、林木育種センターでは、現在約80クローンを組織培養で保存しています。現地の原木のなかには枯れかかっているものもあり、貴重なコレクションです。

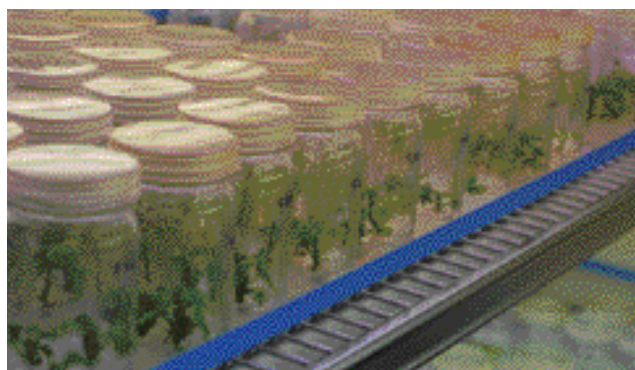


写真-5 組織培養によって保存中のオガサワラグワ