# イヌエンジュの組織培養

戸田 忠雄<sup>(1)</sup>・田島 正啓<sup>(2)</sup>

# Tadao Toda and Masahiro Tajima

Tissue culture of *Maackia amurensis*Rupr. et Maxim. var. *Buergeri* C. K. Schneid (inuenju)

要旨:イヌエンジュの無菌発芽苗の胚軸を外植体に用いた組織培養を行い、シュート形成、発根性、順化等について検討を行った。無菌種子はホルモンフリーのMS培地で76.0%の発芽率を示したが、家系による違いも認められた。初代培養におけるシュート形成率は96.7%で、BAP単用のWPM培地で良好であった。特に BAP1.0mg/ $\ell$ の添加区で平均15.6本、1外植体から最高24本のシュートが形成された。家系別では平均 4.0~11.7本のシュートが形成され、家系による違いが認められた。発根培養では、NAA0.01mg/ $\ell$ 0添加した WPM培地で84.0%の発根率が認められたほか、NAAの低濃度において発根率が高まり、根の数も増加する傾向が認められた。また、家系別の発根率は 0~73.7%(平均52.3%)で家系による違いが認められた。順化はバーミュキライトで70.0%の成功率であったが、幼植体の根の充実程度によって成功率に異なりが認められた。各培養ステージにおける試験結果の最高値を用い、最適条件下で培養した場合の苗木生産量は、1外植体から 205日間に約 1.4万本と試算された。

# 1 はじめに

イヌエンジュ(Maackia amurensis Rupr. et Maxim. var. Buergeri C.K.Schneid )は、マメ科のカライヌエンジュの変種で、北海道の平原や本州中部地方の海抜1,200mまで自生している落葉高木である。生育は広葉樹の中では比較的良い方に位置づけされており、50年生で樹高12m、幹周1mになる $^{11}$ )。材は環孔材で重く、堅密である。心材部は暗褐色、辺材は淡黄色を呈し、色の対比からも美しい。このため、高級家具類、彫刻材、菓子器などの材料として広く利用されており、特に建築内装材としての床柱は珍重されている $^{6}$ )。また、庭木や庭園樹にも適しており、以前は樹皮を薬用や染料に使用していたといわれる $^{2}$ )。近年、天然のイヌエンジュが減少傾向にあり、その対策として既存林分の保存や材の集約的な利用がされている。また、一方では、人工造林も推進されており、これに関連した育苗、育林技術も確立されつつある。

九州では本種の分布は見られず、同属近縁種のハネミイヌエンジュ(Maackia floribunda Takeda)がわずかに分布している。ハネミイヌエンジュは葉型、花等の外部形態がイヌエンジュと類似しており、また、材質面でも高品質材として評価されている。宮崎県都城製材共同組合の1993~ '94年

における㎡ 当たりの平均価格はケヤキ(Zelkowa serrata Makino)11.2万円,イチイ(Taxus cuspidata Sieb. Zucc.)11.1万円,ハネミイヌエンジュ10.1万円であり,価格の上位にランクされており,用材として,木材市場においても関心の高い樹種の一つである。また,熊本営林局ではハネミイヌエンジュを貴重樹種として位置付けており,針広混交林における同種の取り扱いは単木的な管理を行うように指導している $^{1)}$ 。しかし,無性繁殖法の問題,あるいは経済的評価や造林技術の遅れ等から人工造林の実績はそれほど多くはなく,苗木も宮崎県でわずかに生産されているにすぎない。

イヌエンジュの苗木生産は主に実生によって行われており、無性繁殖法では、さし木が実験的に行われているが、いずれも  $2\sim3\%$ の低い発根率である $5^{(5)}$ 。また、実生繁殖法では、発芽率は $50\sim90\%$ 、得苗率は85%と高いものの、種子の豊凶が  $3\sim5$ 年であり、苗木生産は不安定である $5^{(5)}$ 。現在では山採り苗を養成して植栽する方法も行われているが、これも絶対量に限度があり、安定した苗木生産が望まれている。

こうしたことからイヌエンジュの優良木の選抜など育種的な面からの対応の要請もあり、増殖法に 関しては組織培養技術を用いた大量増殖技術の開発が期待されている。

当場でイヌエンジュの組織培養を1988年から実施しているのは、イヌエンジュはハネミイヌエンジュ との類似点が多く、イヌエンジュにより開発された組織培養技術の移入が可能であるほか、材料の入手 が容易であったことがその理由でもある。

イヌエンジュの組織培養の結果については日本林学会九州支部など<sup>7,8,9,10)</sup>に報告しているが、本報はこれまでの報告に、新しく得られた知見を追加して取りまとめた。

## 2 材料と方法

本試験では無菌発芽苗の胚軸を外植体に用いた。無菌的に発芽させた苗(以下無菌発芽苗)は直接外植体として使用できるため、組織培養の材料としては効率的である。無菌発芽苗用の種子は1987年に東北林木育種場(現林木育種センター東北育種場)が樹高 16m, 胸高直径43cmの孤立木から採取して保存していたものを用いた。

1987年に分譲を受けた種子は、家庭用冷蔵庫内( $5^{\infty}$ )で保存し、必要に応じて使用した。また、1989年には Table 1. に示した 5家系の種子を新たに入手した。なお、同樹種における各培養ステージの手順を Fig. 1. に示した。

Table 1. 種子の採種源と100粒当たりの種子重 Seed source and weight of seed in *M. amurensis* var. *Buergeri* (Inuenjyu)

家系 Families	採 種 地 Seed sources	100粒重 Weight of 100 Seeds	
A	北海道夕張市沼の沢(民有地 No.1)	2.65g	
	Yubari Hokkaido (Private forest No.1)	C	
В	同 (民有地 NO.2)	3.87g	
	Yubari Hokkaido (Private forest No.2)		
С	東北林木育種場	3.59g	
	Tohoku Breeding Office.		
D	北海道営林局武島川営林署管内福山担当区部内	5.25g	
	Takesima Hokkaido (National forest)		
Е	北海道江別市分京台緑町	2.18g	
	Ebetu Hokkaido	-	

### 2. 1 無菌発芽苗の育成

1988年,種子の中から充実した大粒のものを選別し、これを70%ェチルアルコール (Ethanol) 5 分間,次に0.25%の塩化第二水銀溶液 (HgCI<sub>2</sub>)で15分間,種子の表面を回転滅菌し、殺菌水に4~5 回浸漬して付着した殺菌剤を除いた。最後に20時間程度滅菌水に浸漬して発芽促進を行った。処理が終了した種子はクリーンベンチ内の濾紙の上で風乾させ、次に示す発芽用培地にまきつけ (以下置床)た。

発芽用培地は Table.2に示したようにMS基本培地(MURASHIGE, T.& SKOOG, F. '62基本培地; 以下MS 培地) $^{3)}$ 及び寒天培地の 2種類とし,両者に6-ベンジルアミノプリン(6-Benzyl aminopurine:BAP)を1mg/ $\ell$ 添加した区とホルモンフリー区の 2水準をそれぞれ設けた。各培地とも,1  $\ell$  当たりサッカロース 20 g,寒天8gを加えpH 5.4に調整した後,試験管に12cc程度分注し蒸気滅菌を行い,クリーンベンチ内で冷却した後,種子を置床した。

1990年に5家系の種子を用いて発芽率の違いを調査した。培地はMS培地のホルモンフリーとし,種子の滅菌等は1988年の場合と同様な手順で行った。なお,発芽試験の環境条件は両年とも温度24°、照度3,000Lux,16時間日長である。

# 2. 2 初代培養におけるシュート形成

1 外植体から多数のシュートを得ることは大量増殖を行う上で重要なことである。ここでは外植体からのシュート形成及び生育等について検討した。

1988年の初代培養はWPM基本培地(Woody plant medium '82基本培地;以下WPM培地) $^{2)}$ を用いた。植物ホルモンは Table、4に示したように,BAPを0.5mg/ $\ell$ 及び1.0mg/ $\ell$ 添加区,それにホルモンフリー区の 3水準とし,ナフタレン酢酸(NAA)を 0.50mg/ $\ell$ とホルモンフリーを組み合わせた 6培地で行った。

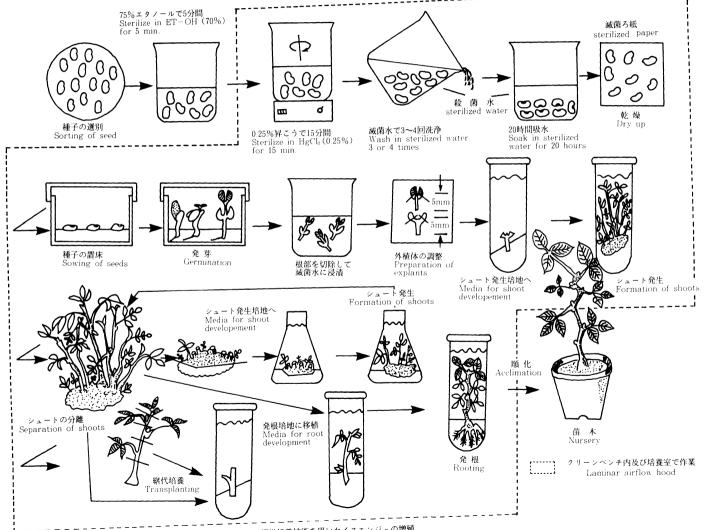


Fig. 1. 組織培養技術を用いたイヌエンジュの増殖 Tissue culture techniques for micropropagation of Maackia amurensis Rung et Maxim var Ruggeri C K Schneid (Innenivu)

1990年に 5家系の無菌発芽苗を外植体に用いて初代培養を行った。培地は前回('88年: Table 4. — No.25試験区)の試験で最も成績の良かった WPM培地に BAP1.0mg/ $\ell$ を添加したものである。両年とも培地は、1 $\ell$ あたりサッカロース 20g、寒天8gを加え pH5.4に調整したものである。

外植体は置床後10日前後で種皮が脱落し、2~3cmに伸長したものの中から、子葉や胚軸等の正常なものを選んで用いた。また、外植体の調整はクリーンベンチ内で行い、滅菌濾紙の上で無菌発芽苗の幼芽、子葉部、根の部分を除去し、胚軸を5mm程度の大きさに分割して培地に移植した。この時期、無菌発芽苗の組織は軟弱であるので、薄刃のメスを使って軽く手前に引くように切断し、切断面の組織を損傷させないようにした。また、調整済みの外植体は乾燥防止のため、滅菌水を入れたビーカに一時ストックした。

培養条件は温度24℃, 照度3,000Lux, 16時間日長である。以下各試験とも断りのない限り同一培養条件で行った。

### 2. 3 発根培養

発根培養は Table 6. に示したように、 WPM培地にNAAを0.01、0.20、0.50mg/ $\ell$ を添加した 3 水準の単用区と、これにインドール酪酸(IBA)を0.5mg/ $\ell$ を各々添加した 3水準、計 6組合わせの培地を用いた。また、家系別の発根性について WPM培地にNAA0.01mg/ $\ell$ を添加した培地を用いて試験を行った(Table 7.)。

発根培地に用いた外植体は初代培養で形成したシュートの中から比較的生育の良いものを選び,滅菌 処理は行わずに直接置床した。

発根調査は置床40日目に、根長が 5mm以上のものを対象にし、発根個体数、根数、根の形態等について行った。また、発根培養に際しては次のような事に留意した。すなわち、発根培地への移植はシュートが良く成長したものをカルスとともに試験管から取り出し、シュート形成基部から切り離し、すばやく発根培地にさしつけた。さらに、シュートを切り取った後のカルス(小さいシュートも含む)は周辺を一部切除して、 Fig. 1に示すように、新しく調整した培地に再置床し、シュート形成までの期間の短縮を行った。

# 2. 4 順化

順化は発根したものの中から、幼植体が4cm以上生育し、根の部分の比較的発達している個体を選んで使用した。まず、試験管から取りだした発根苗は、根に付着した寒天を滅菌水で洗い落とし、乾燥防止のために滅菌水の中に一時ストックした。

移植は直径10cmの素焼鉢を用い、用土はバーミュキライトと苗畑の黒土の 2種類を用いた。各用土は素焼鉢に7分目程度に詰め、オートクレープで滅菌した後、冷却して 1本ずつ移植した。次に移植した鉢は、縦46cm、横64cm、深さ34cmのプラスチック容器に入れて透明なビニールで覆い、乾燥防止のため市販の蒸気発生器を使って湿度調整を行った。移植7日目に容器から鉢を取り出し、さらに室内で7日間育成した。移植2週間後に順化室に入れて遮光率70%で約3ヶ月間養苗した。養苗途中、直径16cmのビニールポットに植替えを行い、主軸の曲がりを支柱で矯正した。

#### 3 結果と考察

### 3. 1 無菌発芽苗

種子の置床10日及び20日目における培地別の発芽状況を Table 2. に示した (Photo. 1.)。20日目の発芽率はMS培地でホルモンフリー区 (No.1試験地) が76%, BAP添加区 (No.2) が68%であった。

Table 2. イヌエンジュの発芽状況 Effect of BAP medium and Benrate on germination of *M.amurensis* var. *Buergeri* (Inuenjyu)

試験区番号	培地の種類	BAP	ベンレ-ト	発芽本数 Germinated seed(%)		
No.of experiment	Medium	mg/l	Benrate mg/ ℓ	10 Days	20 Days	
No.1	MS	_	_	11 (44.0)	19 (76.0)	
No.2	MS	lmg	_	9 (36.0)	17 (68.0)	
No.3	Agar		_	5 (20.0)	6 (24.0)	
No.4	Agar	1mg	_	7 (28.0)	8 (32.0)	
No.5	Agar	_	10mg	4 (16.0)	5 (20.0)	
No.6	Agar	1mg	10mg	5 (20.0)	7 (28.0)	
計 Total				41 (27.3)	62 (41.3)	

各試験区25試料 Each tests: 25 Explants

Condition: Sucrose:  $20g/\ell$ , Agar:  $8g/\ell$ , pH: 5.4,

一方、寒天培地の発芽率は20~32%であり、MS培地に比べて低い値であった。また、寒天培地におけるホルモンフリー区で20、24%、BAP1mg/ℓの添加区は28、32%となり、ホルモンフリー区に比べ若干高い発芽率となった。

家系別種子を用いた発芽率は Table 3.に示した。平均発芽率は36%であり、1988年に行ったMS培地のホルモンフリー区の発芽率(76%, Table 2.-No.1試験区)に比べて低い値を示した。また、家系別の発芽率は10~100%と家系間に著しい違いが認められ、100%発芽したE家系を除くと他の家系は10~30%の発芽率であり、苗畑の発芽率より(50~90

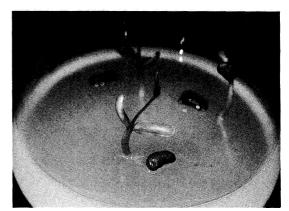


Photo. 1 無菌発芽苗(まきつけ20日間) Sterilized seedlings of M.amarensis var. Buergeri. at 25 days after sawing condition:MS midium, BAP  $1 mg / \ell$ , Sucrose  $20 mg / \ell$ , Agar: $8 g / \ell$ , pH:5.4

%) <sup>4)</sup> 低い値となった。このことは、家系による違いや種子の保存方法等の影響も考えられる。 無菌的に発芽させた芽生えのほとんどは無菌であるが、種子の殺菌が不完全な場合や置床時の作業中 に雑菌が混入すると、コンタミが生ずることもある。試験管の場合は 1粒を、腰高シャーレの場合は3~4粒を置床するが、後者の場合 1本でも汚染されたものが発見されたら、他の個体も感染している可能性があるので、棄却した方が望ましい。

Table 3. 家系別の発芽状況 Germination rate among five families

	まきつけ数 No. of	発 芽 数 No.of Germinated
	Seed	seed (%)
А	20	5 ( 25.0)
В	20	6 ( 30.0)
С	20	3 ( 15.0)
D	20	2 ( 10.0)
E	20	20 (100.0)
it Tota	al 100	36 ( 36.0)

Condition: MS medium, Hormone free, Sucrose: 20g/l, Agar: 8g/l, pH: 5.4

# 3. 2 初代培養におけるシュート形成

シュート形成は置床 $10\sim14$ 日目にBAP添加区のNo.23及びNo.26の両試験区で認められ、試験区によってシュート形成に遅速が見られた。40日目の結果を Table 4. に示した。試験区別のシュート形成個体率(以下シュート形成率)は No.24の試験区の80%(25個体中20個体からシュート形成)を除いて他の試験区はいずれも 100%を示した。

発生したシュートの平均本数は  $1.5\sim15.6$ 本であり、試験区によって変異が認められた。この中、最もシュート数の多かった個体は No.25の試験区において 1個体から24本のシュートが発生した(Photo.2.3)。また、シュートの伸長量はNo.23及びNo.25の試験区で平均40mmであったが、他の試験区は  $2\sim25$ mmでバラッキが見られた。また、No.26の試験区ではシュートの先端部が褐変する個体が認められたが、枯損にまでは至らなかった。

初代培養においてシュート形成ばかりでなく,発根した個体が認められた。 Table 4. からも明らかなように No.21の試験区で21外植体から,また,No.22の NAA単用区では供試した全外植体から発根しており,それらの平均根数は 9.4本であった。こうした現象はホルモンの種類や量等が影響しているものと考えられるが,今回の試験からは明らかにできなかった。

以上の結果から、初代培養におけるシュート形成は BAP単用区で、しかも濃度は  $0.5\sim1.0 \mathrm{mg}/\ell$  が適量範囲と考えられるが、植物ホルモンの種類や添加量についてさらに検討が必要である。

1990年に行った家系別の初代培養は '88年の試験で最も結果の良かった No.25の試験区と同じ培地組成及びホルモンで実施した (MS培地-BAP1.0 $mg/\ell$ )。調査は 2mm以上伸長したシュートを数え、

その結果を Table 5に示した。全体では33個体中29の個体からシュート形成が認められ、1 個体当りの 平均シュート数は  $2\sim19$ 本であった。また、家系別の平均シュート数は $4.0\sim11.7$ 本と家系によって異な

Table 4. イヌエンジュの無菌発芽苗を用いた初代培養におけるシュート発生数(40日目) Number of shoot formation in 1st generation (after 40 days) *M.amurensis* var. *Buergeri* (Inuenjyu)

試験区番号	11-12-3	ホルモン none con	c. カルス個体数 発根個体数	シュ-ト発生 Number of shoot explants			
No.of experiment	BAP mg/	NAA / l	No.of callus (%)	No.of rooting (%)	個体数 No.of shoots(%)	本数(平均) Av. No.of S shoots	シュート長 Shoot length (mm)
No.21	0	0	0 ( 0)	21 ( 84)	25 (100)	1~ 3 ( 1.5)	2~5
No.22	0	0.5	25 (100)	25 (100)	25 (100)	1~ 3 (1.5)	2~5
No.23	0.5	0	25 (100)	0 (0)	25 (100)	5~23 (10.5)	40∼
No.24	0.5	0.5	25 (100)	0 ( 0)	20 (80)	1~ 8 ( 4.2)	2 <b>~</b> 5
No.25	1.0	0	25 (100)	0 ( 0)	25 (100)	12~24 (15.6)	40∼
No.26	1.0	0.5	25 (100)	0 ( 0)	25 (100)	1~10 ( 3.9)	25~40
計 Total			125 (83.3)	46 (30.7)	145 (96.7)		

各試験区25試料 Each tests: 25 Explants

Condition: WPM Medium, Sucrose:  $20g/\ell$ , Agar:  $8g/\ell$  pH: 5.4



Photo. 2 初代培養のシュート形成(置床後40日目) 1 外植体から24本のシュート形成(試験区No25) Results of shoot formation in 1st generation 40 day after replanting.(24 shoots formed by a explants.) Conditiomn:WAP midium, BAP 1mg/ℓ, Sucrose 20mg/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.4



Photo. 3 初代培養のシュート形成 (置床後40日目) 外植体から切り離したシュート Results of shoot formation in lst generation 40 days after replanting. (Shoots divide from explants.)

Table 5. 初代培養における家系別のシュート発生量(移植40日目) Number of shoot formation in 1st generation (after 40 days) among five families

家 系 Families	外植体数 No.of explant	シュ-ト発生個体(1外植体のシュ-ト発生量) Shoot forming explant (No.of shoot per explant)	計 Total shoot	平均シュ-ト数 Av. shoot
А	5	4 (8•4•2•6)	20	5.0
В	6	6 (3•4•3•5•3•6)	24	4.0
С	3	3 (14•12•9)	35	11.7
D	2	2 (9•11)	20	10.0
Е	17	14 (2•16•12•18•13•7•9•13•10•3•6) (11•19•14 )	135	9.6
計 Total	33	29	234	8.1

各試験区25試料 Each tests: 25 Explants

Condition: WPM Medium, Sucrose:  $20g/\ell$ , Agar:  $8g/\ell$ , pH: 5.4

り、特にA及びB家系で少なく、その他の家系ではそれほど大きな違いは見られなかった。シュートの 伸長は実測しなかったが、シュート本数の少ない外植体の生育が良好な傾向が認められ、シュート本数 や生育はホルモンの種類や濃度さらに家系によって異なるものと考えられる。

# 3 . 3 発根培養

発根培地に移植後40日目の結果を Table 6. に示した。試験区別の発根率は44.0 (No.31)  $\sim$ 84.0% (No.34) であり、NAA単用の低濃度区において良い結果が得られた。また、IBAとの併用区では、No.34で80.0%と高い発根率を示したが、いずれもNAA単用区に比べて低い値であった。

根数は NAA単用区で平均 6.6本であり、NAAの低濃度区において多数認められた。また、IBAとの併用区における平均根数は 3.7本であり、NAAの低濃度との組合せにおいて良好であった。しかし、IBAの併用区は NAA単用区に比べいずれも根数は少ない結果となった。

根の区分については実測は行わなかったが、目測により「太」「中」「細」の3段階に区分した (Photo. 4.)。太いものでは細根が少なく、また、細いものは短かい傾向にあり、中程度が最も順化に適したものである。

Table 6. に各試験地区における根の区分別の個体本数を示した。中程度のものはNAA添加区のNo.31、32試験区で多数認められ、No.35及びNo.36試験区におけるIBAとの併用区は根の太いものが多かった。こうしたことからイヌエンジュの発根培養では、NAA0.20mg/ $\ell$ 以下の単用添加が望ましいと考えられる。家系別の発根率を Table 7. に示した。平均発根率は52.3%であり、最高はE家系の73.7%である。家系によって発根率は異なり、B家系のように全く発根しないものも認められた。このことから、芽生えを外植体に用いる場合も、家系の発根性について考慮する必要がある。

試験区番号 No.of experiment	植物ホルモン Hormone 発根個体数		根数(平均)	根の区分 Size of root			
	NAA mg/		No.of root forming explant (%)	No.of roots (Av. roots)	太 Big	中 Medium	細 Slender
No.31	0.01	0	21 (84.0)	2~14 (7.8)	1	13	7
No.32	0.20	0	18 (72.0)	1~12 (6.3)	2	12	4
No.33	0.50	0	15 (60.0)	1~11 (5.7)	7	4	4
No.34	0.01	0.5	20 (80.0)	2~10 (4.5)	1	10	9
No.35	0.20	0.5	16 (64.0)	1~ 7 (3.5)	10	2	4
No.36	0.50	0.5	11 (44.0)	1~ 7 (3.1)	8	3	0
			101 (67.3)		29	44	28

Table 6. イヌエンジュの発根培養 (移植40日目) Effect of hormone on Root formation during 40 days culture

各試験区25試料 Each tests: 25 explants

根長5mm以上のものをカウント Roots with 5mm over in length were counted.

Condition: WPM medium, Sucrose: 20g/l, Agar: 8g/l, pH: 5.4

## 3. 4 順化

Table 8.に順化の結果を示した。室内における14日間の順化中に落葉する個体が認められ、12.5%が枯損したが、その他のものでは新葉が展開し回復した。室内順化における用土別の生存率は、バーミュキライト区90%、黒土区85%であった。枯損の多くは根が充実していない個体が多かった。また、順化室での育成期間中(移植後 3.5ヶ月目)の生存率はバーミュキライト区で70%、黒土区で50%であった。全体の順化成功率が60%と低い結果となったが、個体の発根状態によってもかなり異なる。すなわち順化に用いた個体の中には「中」以外の順化に適さないものも混入していたことも原因の一つと考えられる。今後、発根率の向上と併せて根の発育促進を計るとともに、用土の種類、有菌状態での順化等の検討が必要である。

以上イヌエンジュの芽生えからの組織培養について述べたが、一般の実生増殖の場合も通直性、成長性等遺伝的に優れたものを選抜し、それらの種子を用いることが重要であるが、このことは組織培養の材料についても同様なことがいえる。

これまで行った各増殖ステージの最も高い値を用いて種子 1 粒から増殖できる幼植体を試算すると 120日後には約 2万本近い幼植体が作出できることになる(Fig. 2.)。すなわち 1本の無菌苗を40日間初代培養すると約160本のシュートが形成され(1 シュートから 7 本の外植体が得られるとして),これを 40日間シュート培養すると約21,500本(発生率80%)のシュートが得られる。さらに20日間発根培養すると約19,300本(発根率90%)の幼植体が得られる。この幼植体を順化すると約13,500本(成功率70%)の苗木生産が推定される。

今後、九州に分布するハネミイヌエンジュの遺伝的に優れた個体の大量増殖を行うためには、本試験 結果をふまえて成木からの組織培養が必要と考えられる。

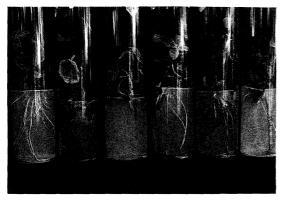


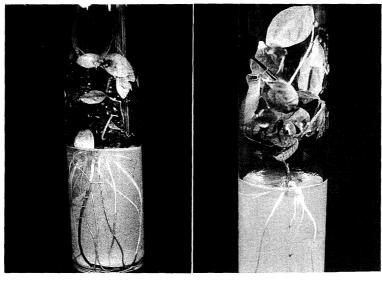
Photo. 4 発根培養における根の状態(置床後40日目) 太い根;左から6番目

中 :左から1, 2, 4番目

Result of rooting formation in 1st generation at  $40~\mathrm{day}$  replanting.

Big size of root:6th from left side.

Medium size of root:lst and 4th from left side.



b 発根不良 Poor rooting



a 発根良 Good rooting



Photo. 6 順化室での育成(順化後1年目) Results of groeth of *M.amarensis* var. *Buergeri* in Acclimation room 1 year after replantung.

Table 7. 発根培養における家系別発根率(移植40日目) Rate of root formed among five families onto rooting medium on 40 days after transplantation

家系 Families	植え付け数 No.of explant	発根本数 No.of rooting(%)	カルス発生 No.of callus formed
А	8	3 (37.5)	8
В	8	0 ( 0 )	8
С	6	1 (16.7)	6
D	5	2 (40.0)	5
Е	38	28 (73.7)	38
計	65	34 (52.3)	65

# 根長5mm以上のものをカウント

Roots with 5mm over in length were counted.

Condition: WPM Medum, Sucrose:  $10g/\ell$ , Agar:  $8g/\ell$ , pH: 5.4

Table 8. イヌエンジュの順化 Effect of soil on Acclimation in M. amurensis var. Buergeri (Inuenjyu)

	m.	順化数 No.of	活着数 No.of live	seedlings(%)	
用 土 Soil	Tra	nsplantation	室 内 Indoor	順化室 Growth cabinet	
バーミュキ Vermicul		40	36(90.0)	28 (70.0)	
黒 Ando s	土	40	34(85.0)	20 (50.0)	
計	Total	80	70(87.5)	48 (60.0)	

室内の結果;移植15日目

Result of indoor: 15 days after transplantation

順化室の結果;移植後105日目

Result of growth cabinet in 105-day-incubation

after transplantation

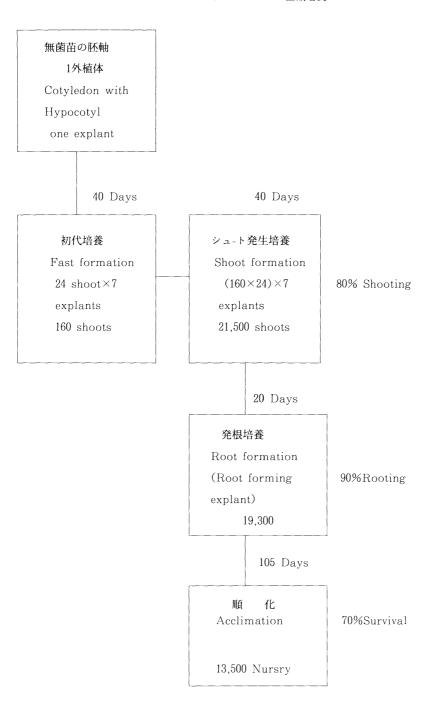


Fig. 2. イヌエンジュの大量増殖 (最適条件下で培養した場合の試算)

Mass production of clonal trees of *M.amurensis* var. *Buergeri* (inuenjyu)

(These numbers were estimated from the most suitable conditions of the culture)

# 4 引用文献

- 1) 熊本営林局森林整備課: 広葉樹造林, 平成6年度造林研修資料, 1~14, 1994
- 2) L<sub>LOYD</sub>, G.and Mc Cown B.H.:Commercially feasible micropropagation of moun tain laurel (*Kalmialatifolia*) by use of shoot tip culture, Proc. Int. Proc.Int. Plant Prop. Soc. 30,:421~427, 1981
- 3) Murashige, T. and Skoog, F.: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacc tissue cultures. Physiol. Plantatrum, 15, 473~497, 1962
- 4) 諸戸北朗:大日本有用樹木効用編, 林業科学振興所,197~198,1903
- 5) 斎藤昭夫·工藤直樹:北海道営林局発表集録,109~114,1983
- 6) 斎藤新一郎: 林業技術者のための特用樹の知識「イヌエンジュ」, 64~65, 日本林業技術協会
- 7) 戸田忠雄: 林木の組織培養に関する研究 (Ⅱ), イヌエンジュの芽生えを用いた組織培養, 日林九州 支部論集42, 79~80, 1989
- 8) 戸田忠雄: 木本植物の増殖と育種, 被子植物ハゼノキの芽生えの増殖, 農業図書, 100~104, 1989
- 9) 戸田忠雄:組織培養を応用したイヌエンジュの増殖,特産情報No. 9,日本特用林産振興会情報誌,75~77,1988
- 10) 戸田忠雄: 林木の大量増殖に関する研究,組織培養におけるイヌエンジュの家系間差,九州育種場 年報 18. 89~92, 1989
- 11) 上原敬二:樹木大樹説(Ⅱ) 479~480, 1964

Clonal rearing of tree species which are difficult to cultivate grow by cutting or grafting propagation

-Maackia amurensis Rupr. et. Maxim. var. Buergeri C.K. Schneid (inuenju) -

Tadao Toda and Masahiro Tajima

National Forest Tree Breeding Center, Kyushu Regional Breeding Office.

# Summary

Tissue culture of Inuenju, Maackia amurensis Rupr. et. Maxim. var. Buergeri C.K. Schneid, was carried out using the aseptic hypocotyle germinated as explants, and the formation of shooting or rooting and the acclimation of rooting plants were examined. The germination rate of fertilized seed on MS medium was 76.0%, though rates varied among families. The best rate of shoot formation was 96.7% on WPM medium with BAP hormone in the first generation. In particular the average number of shoots was 15.6 on WPM medium with 1.0 mg/ℓ BAP and the maximum number of shoots on one explant was 24. However the average number of shoots varied among families, from 4.0 to 11.7 shoots per explant. A root formation rate of 84.0% was recognized on WPM medium with 0.01 mg ∕ℓ NAA, the root formation rate and the number of roots formed were increased by decreasing NAA concentrations. The root formation rate also varied among families, from 0 to 73.7% (average 52.3%). The acclimation rate of rooting plants was 70.0% in vermiculite medium, though their success rates varied by the conditions of the roots formed. If tissue culture is carried out under the most suitable conditions obtained from this experiment, estimates arethat 14,000 trees may be produced from one explant in only 205 days.