

アカシア類の組織培養

戸田忠雄⁽¹⁾, 田島正啓⁽²⁾ ピーター・ブリニ⁽³⁾

Tadao TODA⁽¹⁾, Masahiro TAJIMA⁽²⁾
and Peter B. BRINI⁽³⁾

Tissue culture of *Acacia mangium*,
Acacia auriculiformis, *Acacia hybrid*

要旨: *A. mangium*, *A. auriculiformis*, *A. hybrid*の3樹種を用いてアカシア類における組織培養の可能性を検討した。外植体は無菌発芽苗の胚軸及び2年生ポット苗の腋芽の2種類を用いた。無菌発芽苗は種子を70%の濃硫酸で発芽促進処理を行った後, 70%のニタノールで滅菌してWPM及びMS培地で発芽させた。無菌発芽苗を外植体に用いた初代培養ではBAPを0~2.0 mg/ℓを含む1/2MS培地で8~10割の個体でシュート形成が認められた。シュートの数はBAPの添加量によって異なるが, 1.0~2.0mg/ℓ添加区で多かった。発根培養はIBAとNAAを含む1/2MS培地で行ったが, *A. mangium* が62.5%, *A. auriculiformis* が17.7%で樹種による発根率の違いが認められた。2年生ポット苗の腋芽を外植体にした初代培養は, BAP1mg/ℓを含む1/2MSとMS培地の2種類を用いたが, 樹種別のシュート形成率はMS培地で *A. hybrid* (80.0%) > *A. mangium* (71.4%) > *A. auriculiformis* (57.1%), 1/2MS培地では *A. mangium* (85.7%) > *A. hybrid* (75.0%) > *A. auriculiformis* (28.6%)の順となり, MS培地の方が若干高い値であった。また, *A. hybrid*の個体を用いたシュート形成率はMSは66.7~100%, 1/2MS培地は57.1~83.3%であり, 個体による違いが認められた。発根培養はNAAを0.2mg/ℓ添加したMS変形培地で *A. mangium* 69.2%, *A. auriculiformis* 38.5%, *A. hybrid*が71.8%と無菌発芽苗由来の発根培養結果より高い発根率が認められた。3~4年生苗のとり木を行った結果3樹種, 全個体で発根し, 移植後の生育は良好である。

1 はじめに

アカシア・マンギューム (*Acacia mangium*) はオーストラリア北東部の海岸多雨地, ニューギニア島西部およびマラカス諸島に, また, カマバアカシア (*Acacia auriculiformis*) はオーストラリア北部からニューギニア島南部にかけて自然分布している¹⁰⁾。この2樹種はマメ科植物で, 適応性があり, 成長が旺盛なことから, 熱帯地方に広く分布していることが知られている。特に *Acacia mangium* は酸性土壌 (pH4~6) でも生育可能であり⁸⁾, 酸性土壌の分布が多い熱帯地方では主要樹種の一つとして注目されている。また, 本種は早生樹であるため, パルプ用材等を目的として盛んに造林されており, マレーシア国の例では1989年約20,000haに達していると云われている¹⁰⁾。また, この両者が隣接して植栽された林分では自然交雑 (*A. auriculiformis* × *A. mangium*) が起こり雑種⁷⁾ (*A. hybrid*)(SAFODA) Sabah, Malaysia が確認されている。この雑種は両親に比べて細枝で, 芯

(1), (2) 林木育種センター九州育種場

(3) Sabah Forest Development Authority

腐れ (heart rot) が出にくい等の特性があることから注目されており、同国の Forest Research Centerでは優良形質木の選抜を行い (CPT;Candidate plus tree)¹⁾、遺伝変異の拡大と、選抜木の無性繁殖技術の開発研究を進めている。

無性繁殖法の一方法であるさし木については、雑種の発芽後 4カ月の苗木で行った結果は、平均41.9 %、また、CPTの原木では 6.9%と著しく低い発根率が報告されている¹⁰⁾。また、とり木による方法は無性繁殖法の中では発根が良好であるといわれているが、10～ 15mの高いところの枝を処理するため、作業能率が悪い上に作業の危険も伴うなどの問題がある。さらに、苗畑での育苗過程において枯損も多く、最終的には10%程度の得苗率といわれている。このように現地においても *Acacia* 類の無性繁殖は困難な樹種にランクされており、選抜育種のネックとなっている。マレーシア国において *A.mangium* 及び雑種の選抜木の無性繁殖に携わった西村は、これらの樹種のさし木、つぎ木による大量の苗木生産は困難であり、無性繁殖法の確立とともに組織培養の開発の必要性を述べている⁴⁾。

現在同国では *Acacia* 類のさし木増殖に関して、母樹の樹齢、採穂部位、オーキシンの関係、さし穂長等の内的要因、また、温度、湿度、水分、用土等の外的要因についてわが国の専門家と共同で研究が進められている。一方、九州育種場は毎年20数カ国の育種研修生を受け入れ、さし木、つぎ木等の無性繁殖技術の研修を行っており、組織培養技術も研修テーマの一つである。本報は1991年にマレーシア林業試験場の PETER B. BRIN 氏と共同で実施した結果⁶⁾ を取りまとめたものである。なお、本実験は *Acacia* 類の種子から無菌的に発芽させた無菌苗と2～4年生ポット苗の腋芽を用いて行ったものである。また、組織培養に用いる材料の確保のため3年生苗木を用いたとり木試験を行った。

今回の実験では順化の段階までには至っていないが、本報告では発根までについてとりまとめた。

2 材料と方法

2. 1 無菌発芽苗を用いた組織培養

本実験では、無菌発芽苗の胚軸を外植体に用いた。無菌発芽苗は直接外植体として使えるため組織培養には効率的な材料である。樹種は、*Acacia mangium*, *A. auriculiformis*, それらの雑種の3種であり、種子はマレーシア産のものであるが、採種された個体の産地、樹齢、個体数等は不明である。

無菌発芽苗は次のような手順で育成した。まず、樹種ごとに種子の中から大粒なものを選別し、発芽促進処理を行った。*Acacia* 類の種子は油性の硬い種皮に覆われているため、無処理では発芽率も悪く、不揃いとなる。このため一般には熱湯処理によって発芽促進が行われている。今回は西村ら⁵⁾が行った方法の中の、70%濃硫酸に15分間浸漬する方法によって処理した。処理した種子は、付着した濃硫酸を滅菌水で3～4回洗浄し、クリーンベンチ内において70%エタノールで2分間滅菌した。滅菌種子は滅菌ろ紙の上にひろげて水分を除き発芽培地に置床した。

発芽用培地はTable 1.に示したように、WPM基本培地 (Woody Plant Medium 基本培地; 以下WPM培地)²⁾ 及びMS基本培地 (MURASHIGE, T.& SKOOG, F. 基本培地; 以下MS培地)³⁾ の2種類を用いた。両培地とも6-ベンジルアミノプリン (6-benzyl aminopurine:BAP) を1mg/ℓ添加し、ショ糖30g/ℓ、寒天 8g/ℓを加えpH 5.6に調整した。発芽容器は腰高シャーレに、調整した培地

を15ml程度分注し、蒸気滅菌して用いた。まきつけ（以下置床）は WPM培地に *Acacia mangium* と *A. auriculiformis* の 2 種を、また、MS培地には 雑種をまきつけた。発芽調査は置床14日目に行った。

初代培養は前記実験で発芽した *A. mangium* 及び *A. auriculiformis* の 2 種の無菌発芽苗を用いた。培地はMS培地に含まれている無機塩および有機成分の濃度を半分に減らした培地（1/2MS培地）⁹⁾で行った。本培養ではシュートを大量に誘導させるため、Table 2.に示したように、BAP濃度を0.5mg/ℓ、1.0mg/ℓ及び2.0mg/ℓの3段階に変化させ、BAP濃度とシュート形成の関係について検討した。各個体のシュート数等について移植35日目に調査した。

発根培養は *A. mangium* 及び *A. auriculiformis* の 2 種を用いた。培地は 1/2MS培地に、Table 3.に示したように、ナフタレン酢酸（NAA）0.02及び0.10mg/ℓの単用添加及びインドール酪酸（IBA）0.5mg/ℓにNAAを各々0.02、0.1mg/ℓを組み合わせた 4試験区を設定し、ショ糖20g/ℓ、寒天8g/ℓを加え pH5.6に調整した培地を用いた。発根個体数及び根の状態について移植16日目に調査した。

上述の、各培養とも培養条件は温度24℃、照度3,000Lux、16時間日長である。

2. 2 ポット苗の腋芽を外植体を用いた組織培養

*Acacia*類の CPT、あるいは特殊形質木等を育種母材として収集保存する場合は、成木のクローンを確保しなければならない。しかし、1でも述べたように *Acacia*類では無性繁殖法による造林用苗木生産は困難である。このため組織培養技術を用いた増殖も検討しなければならないが、組織培養を行う場合には、外植体は ①選抜木の原木、②選抜木から一度増殖したクローン（少数個体）から求めなければならない。

本実験では高樹齢の材料が手元にないため、Table 4.に示したように、*A. mangium*、*A. auriculiformis*、雑種の 3樹種について、2年生ポット苗の腋芽を用いた組織培養を試みた。外植体として *A. mangium* 及び *A. auriculiformis* 各 1 個体、雑種 3個体の計 3樹種 5個体を用いた。これらの個体はマレーシア産の種子を九州育種場で播種し、ガラス室で育成したものであり、種子の産地、採種木の樹齢等の由来は明らかでない。

外植体の滅菌及び調整は次に示した。2年生実生苗の枝を採取し、腋芽をつけた部分（葉柄の着生部位）を中心に 3cm程度に調整した。次に葉柄部を残して葉を除去し、乾燥を防止するため水を入れたビーカーに一時ストックした。葉柄をつけておくのは殺菌剤の浸透を防ぐためと、外植体の上下が分からなくなるのを防ぐためである。

滅菌は10%ハイアミンT液（benzethoniumchloride:Hyamine 10W/V%）をつけた筆を用いて、腋芽と主軸の接地面をていねいに洗った。洗い終わったものはビーカーに入れ、ガーゼで蓋をして水道水で1時間程度洗い流した。

次にクリーンベンチ内において70%エタノールに20秒間浸漬した後、10%次亜塩素酸ナトリウム溶液（アンチホルミン；NaClO）に2分間浸漬、さらに0.25%の塩化第二水銀溶液（HgCl₂）で2分間滅菌した。なお、殺菌剤が変わる毎に滅菌水で2～3回洗い流した。滅菌が終わった外植体は滅菌水に一時ストックしておき、使用の都度取り出し、滅菌ろ紙上で長さ7mm程度に調整した。この際外植体の両端及び葉柄部分を切り返した。

初代培養は Table 4. 5. に示したように、MS及び 1/2MS培地の 2種類を用いた。両培地ともBAP 1mg/ℓを添加し、ショ糖30mg/ℓ、寒天 8g/ℓを加え pH5.6に調整した。外植体の置床は腋芽部位が培地より上になる程度にさしつけた。シュート形成個体数等の調査を移植35日目に行った。

発根培養は酒谷⁹⁾がサクラの発根培地として用いたものと同じ培地組成のMS変形培地で行った。すなわち、MS培地のKNO₃とNH₄NO₃を1/4に、硫酸マグネシウム (MgSO₄・7H₂O) と塩化カルシウム (CaCl₂・2H₂O)、鉄成分 (FeSO₄+Na₂-EDTA) を半分に希釈したものである。外植体は Table 6. に示したように、3樹種 5個体について初代培養で形成したシュートの中から成長の良いものを選んで用いた。発根個体数等の調査を置床後35日目に行った。

2. 3 とり木による組織培養の材料の確保

アカシア類は1でも述べたようにとり木が可能である。とり木による苗木生産は効率的ではないが、組織培養の材料であればそれほど多くの苗木生産は必要としないし、また、材料を手元に置くことは、組織培養に用いる萌芽枝を人為的に制御し、必要に応じていつでも利用できる利点がある。そこで 3年生のポット苗からとり木を行い、組織培養の材料確保の可能性について検討した。

とり木は1993年10月に Table 7. に示した 3樹種について、各 3個体を用いて行った。とり木に用いた個体の苗高は170~200cmであり、とり木処理部位の直径は2~3cmであった。処理は各個体の地際から苗高の 2/3程度の主軸部位を幅 2 cmの幅に環状剥皮し、ペーパータオルで内樹皮を取り除いた。次に剥皮部を水ごけで巻き、オレンジ色、黒色、透明の 3種類のポリエチレンフィルムで包んだ。6ヶ月後に処理部分の下から切り離し、水ごけを取り除いた後、バーミュキュライトとパーライトを6対4の割合で混合した用土で鉢植を行った。

3 結果と考察

3. 1 無菌発芽苗を用いた組織培養

置床してから 5日目に *A. mangium*の発芽が始まった。若干遅れて *A. auriculiformis*、雑種が同時に発芽し、14日目には全樹種が発芽、苗長も 2.5cm前後に伸長した。置床後14日目の樹種ごとに培地別発芽率をTable 1. に示した (Photo. 1.)。WPM培地では *A. mangium*は3.7%、*A. auriculiformis*は38.9%であった。一方のMS培地では *A. mangium*は32.0%、*A. auriculiformis*は52.0%、雑種は16.7%となり、MS培地の方がいくぶん高い発芽率を示した。また、*A. auriculiformis*は両培地において最も高い発芽率を示した。

初代培養における BAPの濃度別のシュート形成について置床後35日目の結果をTable 2. に示した。樹種別のシュート形成率は*A. mangium*が94.1%、*A. auriculiformis*は96.6%と同程度であった。また、BAPの濃度別では両樹種ともホルモンフリー区で 100%のシュート形成を認めたが、1 外植体当りのシュート数は少なかった。一方、1.0~2.0mg/ℓ添加区における両樹種のシュート形成率はホルモンフリー区に比べて低い値であるが、外植体当りのシュート数は増加する傾向にあり、同培養過程における BAP添加濃度は 1.0~2.0mg/ℓの範囲が適当と考える (Photo. 2.)。

Table 1. 発芽用培地別の発芽率
Effect of medium on germination (14 days after)
of *A.mangium*, *A.auriculiformis* and *Acacia* hybrids

樹 種 Species	培地 Medium	まきつけ数 No. of seeds examined	発芽数 (%) No. of germinated seeds (%)
<i>A.mangium</i>	WPM	54	2 (3.7)
<i>A.auriculiformis</i>	WPM	54	21 (38.9)
<i>A.mangium</i>	MS	100	32 (32.0)
<i>A.auriculiformis</i>	MS	100	52 (52.0)
<i>A.hybrids</i>	MS	30	5 (16.7)

Conditions : Hormone : BAP 1mg/ℓ, Sucrose:30g/ℓ, Agar : 8g/ℓ
pH : 5.6

Table 2. BAP濃度がシュート形成に及ぼす影響 (移植35日目)
Effect of shoot development with 4 different concentrations of
BAP(35 days after) in *A.mangium*, *A.auriculiformis*

樹 種 Species	BAP濃度 BAP Conc. (mg/ℓ)	外植体数 No. of explant transferred	シュート形成個体 Shoot forming explants				発根個体 No. of the rooted
			0本 No shoot	1本 1 shoot	1本以上 more than 1 shoot	形成個体計 No. of the shooted (%)	
<i>A.mangium</i>	① (0.0)	2	0	2	0	2 (100)	1
	② (0.5)	5	0	5	0	5 (100)	0
	③ (1.0)	5	0	1	4	5 (100)	0
	④ (2.0)	5	1	1	3	4 (80.0)	0
計 Total		17	1	9	7	16 (94.1)	1
<i>A.auriculiformis</i>							
	① (0.0)	13	0	12	1	13 (100)	4
	② (0.5)	15	1	14	0	14 (93.3)	0
	③ (1.0)	15	0	9	6	15 (100)	0
	⑤ (2.0)	15	1	11	3	14 (93.3)	0
計 Total		58	2	46	10	56 (96.6)	4

Conditions : 1/2MS Medium, Sucrose:30g/ℓ, Agar : 8g/ℓ pH:5.6



Photo. 1. *A. mangium*の無菌発芽苗(置床20日目)
Germination (cultured 20 days) of *A. mangium* in agar
medium
Conditions: Sucrose 30g / ℓ, Agar: 8g / ℓ, pH: 5.6



Photo. 2. *A. mangium*の無菌発芽苗を外植体
にした初代培養のシュート形成(置床35日目)
Shoot formation in 1st generation (35 After
days) of replanted germination. Conditions: 1/2
MS medium BAP: 1mg / ℓ, Sucrose : 30g / ℓ,
Agar : 8g / ℓ, pH: 5.6

Table 3. 発根に及ぼすIBA及びNAAの影響
Effect of root development with different IBA+NAA concentration (16 days)
A. mangium, *A. auriculiformis*

樹 種 Species	植物ホルモン Hormone		培養数 No.of explants transferred	発根個体数 (%) No.of root forming explants	カルスのみ (%) Callus only	未発根 未カルス No root/ callus	根の発達 Rooting	
	IBA (mg/ℓ)	NAA					良 Good	不良 Poor
<i>A.mangium</i>	0.0	0.02	5	4	1	0	4	0
	0.0	0.10	5	1	1	3	1	0
	0.5	0.02	3	3	0	0	3	0
	0.5	0.10	3	2	1	0	2	0
計 Total			16	10(62.5)	3(18.7)	3	10	0
<i>A.auriculiformis</i>								
	0.0	0.02	8	1	0	7	0	1
	0.0	0.10	8	1	1	6	1	0
	0.5	0.02	9	3	4	2	3	0
	0.5	0.10	9	1	7	1	0	1
計 Total			34	6 (17.7)	12 (35.3)	16	4	2

Conditions : 1/2 MS medium, Hormone : IBA+NAA (mixtures at 4 different),
Sucrose: 20g / ℓ, Agar : 8g / ℓ pH : 5.6

発根培養における発根は移植後10日目から観察された。樹種別発根率はTable 3.に示したように、*A.mangium*は62.5%、*A.auriculiformis*は17.7%と予想外に低い値を示し、樹種による発根率の違いが認められた。IBAとNAAの発根への影響は特に認められなかったが、NAA単用区において発根・カルの両者とも未形成の個体が多い傾向があった。

一方、カルス形成は発根や不定芽を誘導する場合に重要な因子である。本実験では、*A.mangium*が18.7%、*A.auriculiformis*が35.3%のカルス形成率で樹種による違いが認められた。また、発根率の向上については、初代培養のホルモンフリー区で発根を観察しており (Table 2.の*A.auriculiformis*) ホルモンの種類及び濃度について検討する必要がある。

根の発達状況は *A.mangium*は発根した個体の全てが良好であったのに対して、*A.auriculiformis*では発根した個体の約3割が不良であった。

3. 2 ポット苗の腋芽を外植体に用いた組織培養

2年生実生苗の腋芽を外植体に用いた初代培養の結果をTable 4.5.に示した。樹種を込みにしたシュー

Table 4. MS培地での腋芽を外植体にした初代培養 (移植35日目)
Shoot performance of 3 *Acacia* species at MS media
(Asst.data 35 days)

樹 種 Species	外植体数 No. of soots cultured	シュート形成個体 No. of shoot foming explant(%)	シュート未形成個体 No new shoot	雑菌汚染 Contaminated (%)
<i>A.mangium</i>	7	5 (71.4)	0	2
<i>A.auriculiformis</i>	7	4 (57.1)	0	3
<i>A.hybrids</i> No.26	7	7 (100)	0	0
<i>A.hybrids</i> No.28	6	4 (66.7)	0	2
<i>A.hybrids</i> No.31	7	5 (71.4)	0	2
計 Total	34	25 (73.5)	0	9 (26.5)

Condition : MS medium, Hormone : BAP1mg/ℓ, Sucrose : 30g/ℓ, Agar : 8g/ℓ
pH : 5.6

ト形成率はMS培地が73.5%、1/2MS培地が67.6%であった。また、樹種別及び個体別のシュート形成率はMS培地では雑種 (平均80%, 66.7~100%)>*A.mangium* (71.4%)>*A.auriculiformis* (57.1%)で、1/2MS培地は*A.mangium* (85.7%)>雑種 (平均75%, 57.1~85.7%)>*A.auriculiformis* (28.6%)の順となり、両培地とも*A.auriculiformis*のシュート形成率は低い結果となった。

また、雑種の個体別のシュート形成率は、両培地ともNo.26 (MS:100%, 1/2MS:85.7%)が最も高く、ついで No.31 (同様に71.4, 83.3%), No.28 (同様に66.7, 57.1%)の順となり、樹種や個体によってシュート形成率の異なることが認められた (Photo. 3~6.)。また、本培養においてMS, 1/2MS培地とも26.5%の雑菌汚染率を認めたが、これはポット苗を養成したガラス室が雑菌の繁殖し易い環境にあったことが原因の一つと考える。したがって、雑菌汚染の発生を抑えるためには、外植体の育成場所

Table 5. 1/2MS培地での腋芽を外植体にした初代培養（移植35日目）
Shoot performance of 3 *Acacia* species at 1/2MS media
(Asst.data 35 days)

樹 種 Species	外植体数 No. of soots cultured	シュート形成個体 No. of shoot foming explant (%)	シュート未形成個体 No new shoot (%)	雑菌汚染 Contaminated (%)
<i>A.mangium</i>	7	6 (85.7)	0	1
<i>A.auriculiformis</i>	7	2 (28.6)	1	4
<i>A.hybrids</i> No.26	7	6 (85.7)	0	1
<i>A.hybrids</i> No.28	7	4 (57.1)	1	2
<i>A.hybrids</i> No.31	6	5 (83.3)	0	1
計 Total	34	23 (67.6)	2	9 (26.5)

Condition : 1/2MS medium , Hormone : BAP1mg/ℓ , Sucrose : 30g/ℓ , Agar : 8g/ℓ
pH : 5.6

摘 要 : *A. hybrids* のNo.は九州育種場で育成している個体番号である。

Remark : the *A.hybrid* indicates the tag put on the *A.hybrid* seedlings raised
in green house of Kyushe Regional Breeding Office

The Hybrids used in this experiment is chosen based on their phenotypic
appearance.

の管理，材料の採取時期等について配慮するとともに，滅菌を十分行うことも必要である。また，滅菌の際には殺菌剤に対する外植体の感受性について注意しなければならない。今回も雑種の No.26はエタノールに，No.28は次亜塩素酸ナトリウムに対して外植体に葉害を認めており，滅菌剤の選択及び濃度や処理時間等について検討しなければならない。

発根培養は置床後15日目には発根して植物体を再生した。置床後35日目の結果をTable 6.に示した。樹種及び個体毎の発根率は*A.mangium* 69.2%，*A.auriculiformis* 38.5%，雑種（平均71.8%）で無菌発芽苗を用いたときの発根率に較べて前記 2樹種は若干高い値となった。これは，無菌発芽苗の時に比べて NAAを0.2mg/ℓと高濃度にしたことが好結果をもたらしたものと考える。しかし，*A.auriculiformis*は3樹種の中で最も低い発根率であり，無菌発芽苗の場合と同様な傾向を示したことから，本種の発根性は低いものと推測される。本培養では雑種の発根率が61.5～84.6%と比較的高い値を示したが，個体による違いも認められた（Photo. 7.～9.）。

*Acacia*類の発根については，斎藤ら⁸⁾が*A.mangium*で行った実験で，通気性を考慮した発根培養では，発根率が33%から70%に向上したと報告しており，今後，発根率はさらに高められるものと思われる。

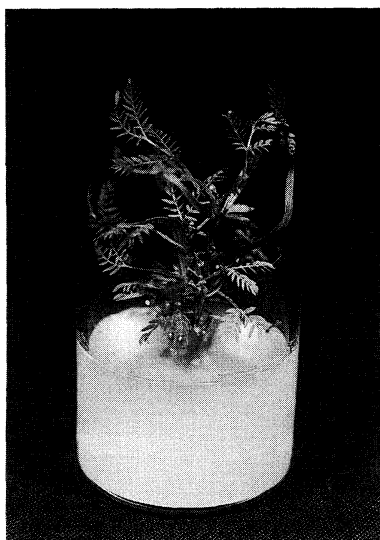


Photo. 3
*A. mangium*の3年生腋芽を外植体にした初代培養
 Shoot formation in 1st generation(35 after days)
 of axillary bud of *A. mangium*
 Conditions: MS midium, BAP:1mg/ℓ, Sucrose :
 30g/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.6

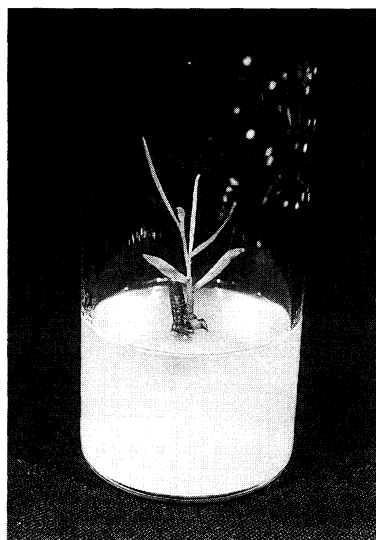


Photo. 4
A. hybrid No.28の3年生腋芽を外植体にした初代培養
 Shoot formation in 1st generation(35 after days)
 of axillary bud of *A. hybrid* No.28
 Conditions: MS midium, BAP:1mg/ℓ, Sucrose :
 30g/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.6



Photo. 5
A. hybrid No.28の3年生腋芽を外植体にした初代培養
 Shoot formation in 1st generation(35 after days)
 of axillary bud of *A. hybrid* No.28
 Conditions: MS midium, BAP:1mg/ℓ, Sucrose :
 30g/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.6

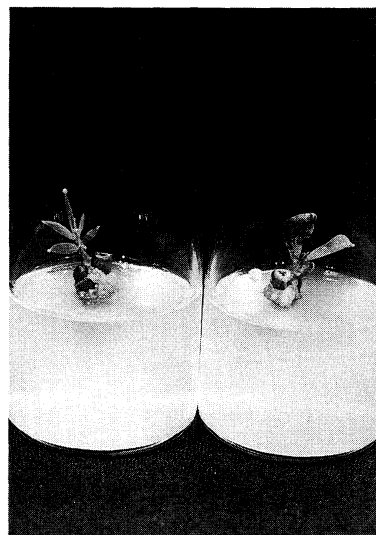


Photo. 6
A. hybrid No.26の3年生腋芽を外植体にした初代培養
 (シュート形成が不良)
 Shoot formation in 1st generation (35 after days)
 of axillary bud of *A. hybrid* No.26 (This picture
 shows poor shoot)
 Conditions: MS midium, BAP:1mg/ℓ, Sucrose :
 30g/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.6

Table 6. アカシア 3 種の発根培養
Results of Root formation of 3 Acacia species
in 35-day-Culture

樹 種 Species	培養数 No. of Explants	発根個体 No. of root (%)	根の発達 Rooting	
			良 Good	不良 Poor
<i>A.mangium</i>	13	9 (69.2)	8	1
<i>A.auriculiformis</i>	13	5 (38.5)	3	2
<i>A.hybrids</i> No.26	13	9 (69.2)	8	1
<i>A.hybrids</i> No.28	13	8 (61.8)	6	2
<i>A.hybrids</i> No.31	13	11 (84.6)	10	1
計 Total	65	42 (64.6)	35	7

Conditions : MS transformation⁸⁾ Hormone : NAA0.2mg/ℓ,
Sucrose : 20g/ℓ, Agar : 8g/ℓ pH : 5.6



Photo. 7.

*A.mangium*の3年生腋芽を外植体にした発根培養
Root formation in 1st generation (35 after
days) of axillary bud of *A.mangium*.
Conditions:MS midium, NAA:0.2mg/ℓ,
Sucrose : 20g/ℓ, Agar:8g/ℓ, pH:5.6

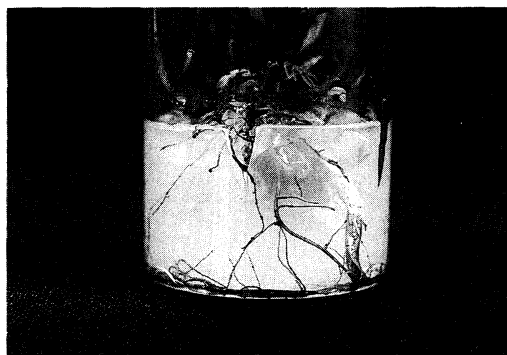


Photo. 8. *A.mangium*の発根良好な個体
Root formation in 1st generation (35 after
days) of axillary bud of *A.mangium*.
(This picture shows good shoot)
Conditions:MS, midium, NAA:0.2mg/ℓ,
Sucrose : 20g/ℓ, pH:5.6

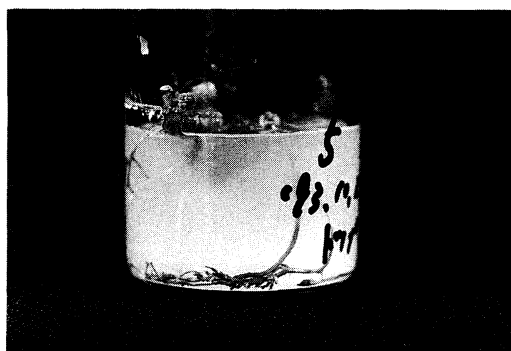


Photo. 9. *A. mangium*の発根不良な個体
 Root formation in 1st generation (35 after days)
 of axillary bud of *A. mangium*.
 (This picture shows poor shoot)
 Conditions: MS medium, NAA: 0.2mg/ℓ,
 Sucrose: 20g/ℓ, pH: 5.6

3. 3 とり木による組織培養の材料の確保

とり木処理を行って、約1カ月後にはビニールの表面に数本の根が観察できた。1.5カ月後には細根も多数発生し、根の色も褐色に変色した。この時期に移植が可能であったが、今回の移植は6カ月後に

Table 7. 3年生ポット苗のとり木
 Result of marcotting of *Acacia*

樹 種 Species	フィルムの色 Color of covering			計 Total	活着数 Survival No.
	オレンジ Orange	クロ Black	透明 Transparent		
<i>A. mangium</i>	1	1 (1)	1	3	0
<i>A. auriculiformis</i>	1	1	1	3	3
<i>A. hybrids</i> No.26	1	1 (1)	1	3	1

() は発根後に枯損したものである。

活着数は移植4カ月後の調査

Remark: In () shows died clone after rooting.

This table shows the result of 4 month after replanting.

行ったため、枝の部分枯れが一部認められた。とり木後4カ月後及び移植後の状況をTable 7.に示した(Photo. 10. 11.)。

各樹種とも全個体で発根を認めたが、黒色のビニールで包んだ *A. mangium* 及び雑種は4カ月後に枯損した。さらに移植後 *A. mangium* の2個体が枯損した。これらはいずれも移植時期が遅かったため、発生した根が腐蝕等によって障害を起こしていたことに起因する。そのほかの個体は移植後3カ月を経過するが、萌芽枝が発生し良好な生育となっている(Photo. 12.)。

*Acacia*類の組織培養について発根培養までを取りまとめたが、不明な部分も多い。今後さらに順化等について実施する予定であるが、これについては、九州育種場の研究課題の中で進めて行く計画である。



Photo. 10. *A.hybrid*の4年生のとり木
Marcotting of *A.hybrid* (4years old)



Photo. 11. *A.hybrid*のとり木の発根状況
Rooting of marcotted of *A.hybrid*.

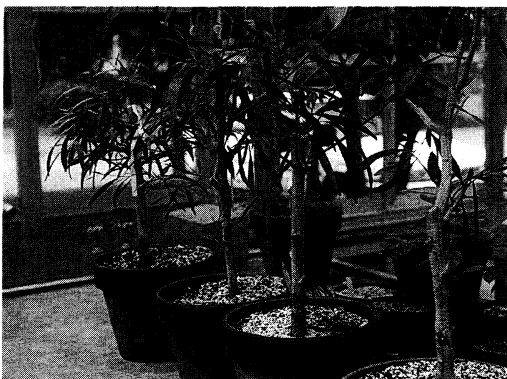


Photo. 12. *A.hybrid*のとり木育成
Replanted tree of *A.hybrid* marcotted.

引用文献

- 1) LIANG Sim Boon : Sabah forest industris Sdn. BHD Spitang. Sabah Malaysia, 69pp (1989)
- 2) LLOYD, G. and Mc COWN B.H.: Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) 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 tobacco tissue cultures. Physiol. Plantarum, **15**, 473 ~497 (1962)
- 4) 西村慶二 : *Acacia*類の育種, 九育年報 **20**, 85~92, (1992)
- 5) 西村慶二他 : アカシア類の発芽促進, 日林九支研論**46**, 125~126 (1993)
- 6) PETER B. BRINI 他 : アカシア・マンギューム等の組織培養による増殖の試み, 1991, 1992年度海外研修員研修報告書集NO. **1**, 18~31 (1993)
- 7) RUFELDS C. WYNN : FRC publication **41**, 83pp (1988)
- 8) SAITO Yoko, KOJIMA Katsumi, IDE Yuji and SASAKI Satohiko : In vitro Propagation from axillary buds of *Acacia mangium*, a legume tree in the tropics, 植物組織培養, Vol.**10** No. 2 163~168 (1993)
- 9) 酒谷昌孝 : 林木の種苗増殖の実際, サクラ, 木本植物の増殖と育種, 農業図書145~151 (1989)
- 10) 田島正啓 : *Acacia mangium*とその自然雑種の無性繁殖に関する研究, 九育年報**19**, 73~82 (1991)

Tissue culture of *Acacia mangium* *Acacia auriculiformis* and *Acacia* hybrid

Tadao TODA and Masahiro TAJIMA

National Forest Tree Breeding Center,
Kyushu Regional Breeding Office.

Summary

The Possibility of tissue culture was examined for three tree species, *A. mangium*, *A. auriculiformis* and their hybrid. Two kinds of aseptic explants from hypocotyl of germinated seedling and axillary buds of 2-year-old seedlings were used for this experiment.

After germination promotion of seeds in a 70% sulfuric acid solution and sterilization by ethanol, aseptic explants of hypocotyls were prepared from the seeds germinated on the WPM or MS medium. Shoot formation was noted in 80 % to 100 % of individuals on the 1/2 MS medium with 0- 2.0 mg/ℓ of BAP in the initial culture. However, the number of shoots varied according of the amount of BAP additions in medium, reaching its maximum in 1 to 2.0 mg/ℓ of BAP.

Rooting experiments were conducted on half-strength (1/2) MS medium with two kinds hormones of IBA and NAA, rooting percentages varied from 62.5% in *A. mangium* to 17.7 % in *A. auriculiformis*. In the initial culture using explants from axillary buds of 2-year-old seedlings, two kinds of media of 1/2 MS and MS with 1 mg/ℓ of BAP were used. The order of shoot formation rates on MS medium was *A. hybrid* (80.0%) > *A. mangium* (71.4%) > *A. auriculiformis* (57.1%) and that of 1/2 MS medium was *A. mangium* (85.7%) > *A. hybrid* (75.0%) > *A. auriculiformis* (28.6%); hence, the rate in the MS medium was apparently little higher than that of the 1/2-MS media. The rates of shoot formation in three individuals of *A. hybrid* varied from 66.7% - 100% on MS medium and 57.1% - 83.3% on 1/2-MS medium, with differins rates among individuals. The rooting rate using explants from axillary buds of 2-year-old seedlings in MS medium with 0.2mg/ℓ of NAA was 69.2% in *A. mangium*, 38.5% in *A. auriculiformis* and 71.8% in *A. hybrid*, and the rate was higher than explants of hypocotyls. As a result of the marcotting of the three *Acacia* species, all of the treated trees successfully rook root and grew.