

# フタバガキ科の栄養繁殖技術

中村健太郎 \*・木村信司 \*\*

## I. はじめに

当社が熱帯林再生技術研究組合に参加し、早5年が過ぎ去ろうとしている。当社では、インドネシア・東カリマンタン州スブルに実験林を設置し、主にフタバガキ科及び早成樹の植栽法、果樹等の換金作物と樹木の混植法、菌根菌の利用法、栄養繁殖法について試験・研究を行っている。

フタバガキ科の植林は未解明な部分が多く、当社でもプロジェクト開始当初から数々の難問に直面したが、多方面の方々から懇切丁寧なご助言、ご指導を頂いたおかげで、'96年3月末までに170haの植林を終えることができた。また組織培養、挿し木等の栄養繁殖技術についても一部の樹種については実用レベルに近い段階に達することができた。

今回の報告は、栄養繁殖技術に関する研究結果を全てまとめたものであるが、詳しい実験データについては論文や学会発表要旨集等を参考にして頂き、ここでは現地で利用できる手法、材料等について要約し報告したいと思う。

## II. 組織培養

### 1. 現状と問題点

フタバガキ科樹木の組織培養に関する研究は、*Shorea roxburghii* G. Don 等で報告があるが、種子（胚）や無菌発芽させた幼植物体を材料に用いており、成木や苗木由来の材料を用いた例、すなわちクローン増殖に有効とされている腋芽や茎頂を用いた研究はなされていない。この背景には、熱帯地域では雑菌汚染が顕著であり材料の殺菌が困難であること、また樹木は草本類に比べフェ

NAKAMURA, Kentaro and KIMURA, Shinji : Technique of Vegetative Propagation on Dipterocarps

\* 住友林業（株）筑波研究所 \*\* 同グリーン環境室

ノール性物質を多く含むため材料が褐変枯死すること等があり、熱帯地域での組織培養研究の妨げとなっている。

また、フタバガキ科の挿し木では、枝から採取した挿し穂は斜向成長を示すことが知られており、更に成木から採取できる主軸の腋芽はごくわずかである。このため、精英樹の増殖が困難とされている。そこで当社では、採穂園を造成するための苗木を組織培養により成木からクローン増殖させ、次いで採穂園から挿し穂を採取し、挿し木により苗木の大量生産を行うという方法、すなわち組織培養と挿し木を併用することで、従来困難とされているフタバガキ科樹木の増殖を可能にしたいと考えた。

そこでまず始めに、組織培養によるフタバガキ科の増殖技術を開発するため、腋芽培養及び茎頂培養に着手した。腋芽培養は、腋芽を含む枝条からショート伸長をさせ、次いで得られたショートを発根培地上で発根させて植物体を再生する方法で、植物組織培養では最もポピュラーな手法である。茎頂培養は、頂芽あるいは腋芽の成長点を実体顕微鏡下で摘出し培養することにより、多芽体を形成させ、次いでこの多芽体から多数のショートを伸長させた後、ショートを発根培地で培養することにより大量の植物体を再生する手法である。茎頂は、i) フェノール性物質をほとんど含まない、ii) 雜菌汚染が少ない、iii) 分裂細胞の塊であるため活性が高い、といった特長を有する。

なお、実験は基本条件の検討を日本で行ない、それをインドネシアで適用する手順をとった。インドネシアでは材料が豊富なため、詳細な培養条件を詰めることができた。以下に、その方法についてやや詳細に報告する。

## 2. 腋芽培養

### 対象樹種

研究開始当初、*S. leprosula*, *S. roxburghii*, *S. johorensis*, *S. pauciflora*, *S. ovalis* の 5 樹種を対象とし、基本条件の検討を行った。*S. roxburghii* を除いた 4 樹種はフェノール性物質の流出が多く、ペーパブリッジ法や活性炭の添加を試みたが腋芽培養は困難であったため、*S. roxburghii* を対象樹種として諸条件の検討を行った。

### 外植体の表面殺菌

材料には、1~2 年生の実生苗から採取した腋芽を用いた。日本でうまくいった手順で殺菌を行ったが、雑菌汚染率は 100% であったため、より厳しい殺菌条件を検討する必要が生じた。殺菌条件を厳しくすると植物体の生存率が低下するため、雑菌汚染率が低く、植物体の生存率が高い方法を検索した。

その結果、下記に示す順序で表面殺菌を行うことにより、雑菌汚染率を20%以下まで下げる事ができた。

① 材料は分割せずに、腋芽約3個含む長さ約20cmとする ② ブラシを用いて中性洗剤で洗浄 ③ 蒸留水を交換しながら2~3回灌ぐ ④ 蒸留水で5分間流水洗浄 ⑤ 滅菌水中で10分間攪拌 ⑥ 70%エタノール中で30秒間攪拌 ⑦ 0.2%塩化第2水銀溶液中で7分間攪拌 ⑧ クリーンベンチ内で滅菌水を交換しながら5回灌ぐ ⑨ 滅菌ろ紙上で5分間風乾 ⑩ 植えつけ直前に1個ずつの腋芽を含む枝状に分割する

#### ショート伸長及び植物体の再生

採取した枝条を上記の方法で殺菌し、固体培地に植えつけた。培地は、4種類の基本培地と8種類の植物成長調節物質を各々濃度を変えて組み合わせて検討した。また、炭素源である糖に関しても10種類の糖を用いて、その効果について検討した。

その結果、*S. roxburghii*に関しては、通常組織培養で用いられている炭素源であるショ糖よりもグルコースが有効であり、またショート伸長には、IBA, BAP, GA<sub>3</sub>を添加した1/2B5培地が適していることが明らかになった。伸長したショートをホルモンフリー、あるいはNAA 1.0 mg/lを添加した1/4B5培地で培養することにより発根が可能であった（写真1）。

#### 順化

再生した植物体を、オートクレーブにより殺菌した無菌土壌あるいは屋外の非無菌土壌に移植し順化を試みた。無菌土壌にはバーミキュライトあるいはパーライトを用い、これに滅菌水あるいはハイポネックスの1,000倍液を添加した。再生した幼植物体は滅菌水中で寒天を洗い流し無菌土壌に移植した後、培養室内で育成させた。しかし、無菌土壌に移植した個体は、1か月後に全て褐変枯死した。

非無菌土壌として、バーミキュライト、バーミキュライトとパーライトの1:1混合土、赤玉土、菌根菌(*Sclerotium sp.*)感染苗の根元の土の4種類を用いた。これらに再生した幼植物体を移植し、温室内で育成させ

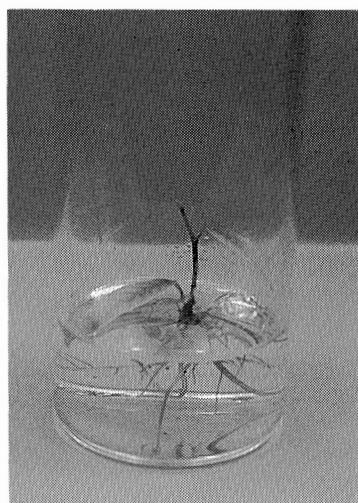


写真1 腋芽から再生された  
*S. roxburghii*

た。なお、幼植物体を植えたポットは温室ベンチ上及び菌根菌感染苗の根元に置き、上部は湿度保持のためビーカで覆った。これらの個体のうち、菌根菌感染苗の根元の土に移植し、且つ菌根菌感染苗根元に置いた個体は約3か月間成育した。しかし、シート伸長や新葉の展開は観察されず、3か月後には枯死した。

以上の通り、未だ順化に成功したとは言えず、今後更なる検討が必要である。

### 3. 茎頂培養

#### 対象樹種

上記のような、*S. roxburghii* の再生系の確立と並行して、これを効率よく大量増殖させるため、茎頂培養による多芽体形成に取り組んだ。

#### 多芽体形成

材料として実生苗から頂芽を採取し、腋芽培養の際と同様な方法で殺菌を行った後、実体顕微鏡下で大きさ約4mmの茎頂を摘出した。摘出した茎頂は、1/4B5培地にIBA、BAPを添加した固体及び液体培地で培養した。液体培養に関しては、回転培養と旋回培養の2種類を検討した。

その結果、BAP 1.0 mg/l を添加した培地を用い、回転培養した際にのみ、多芽体の形成が観察された。誘導した多芽体は BAP を添加した 1/4B5 培地で培養することにより、更なる芽の増加も観察された。増殖した多芽体を BAP を添加した 1/4B5 固体培地に移植することにより、多芽体からのシート伸長も観察された。現在、シート伸長を更に促すため、培地及びホルモンについて検討中であり、これに成功すれば *S. roxburghii* の大量増殖が可能になると思われる。

#### 今後の課題

以上の結果をふまえ、今後検討すべき課題としては、順化方法の改良及び確立、3~4年生幼木の腋芽を使用した植物体の再生、多芽体による増殖系の確立、精英樹の選択及び増殖、他樹種への応用等を考えている。

## III. 挿し木

### 1. 現地での留意点

挿し木を行うにあたり、最も留意した事は、現地で誰でも容易に行えるようにするため、簡単な手法で且つ安価な材料を用いるという事であった。後述する温室、挿し木ボックス、挿し床に用いる土壤等の全ての材料は現地で調達できるものを考慮した。

以下に、インドネシアにおける挿し木試験の結果を述べる。

### 2. 温室等の施設

温室の床面積は7×15 mで、温室の側面は金網張り、屋根は半透明プラスティックの波板とし、天井から約2 m下の部分に遮光率80%の寒冷紗を設けた(写真2)。挿し木ボックスは木製(ウリン製)で、高さ70 cm×幅85 cm×長さ400 cmの大きさで持ち運びが可能である。挿し木ボックスの上部は、湿度を保つためビニールで覆い(写真3)、底には10 cm間隔で直径1 cmの穴を開けたビニールシートを敷いた。その上に厚さ4 cmの碎石を敷き詰め、さらにその上に挿し床となる砂、レンガ片等を10 cmの厚さになるように入れた(図1)。

挿し床の土壌には、研究施設から約1 km離れた所を流れるマハカム川から採取される川砂及び現地で建築用に用いられているレンガを砕いて作ったレンガ片(粒径5 mm以下)の2種類を各々単独あるいは1:1の割合で混ぜたものを使用した。なお、全ての土壌

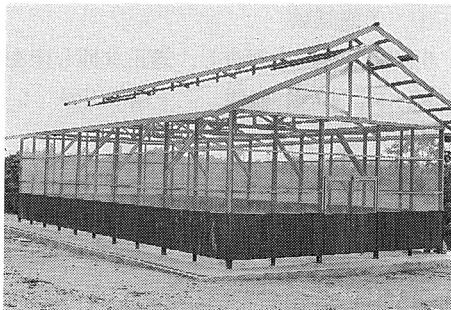


写真2 挿し木用温室

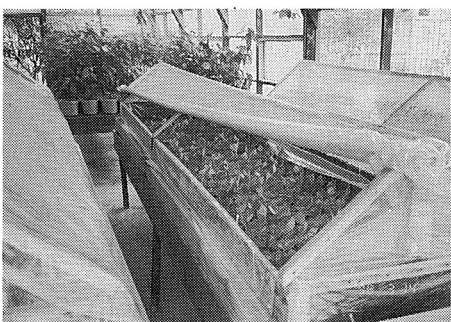


写真3 挿し木ボックス

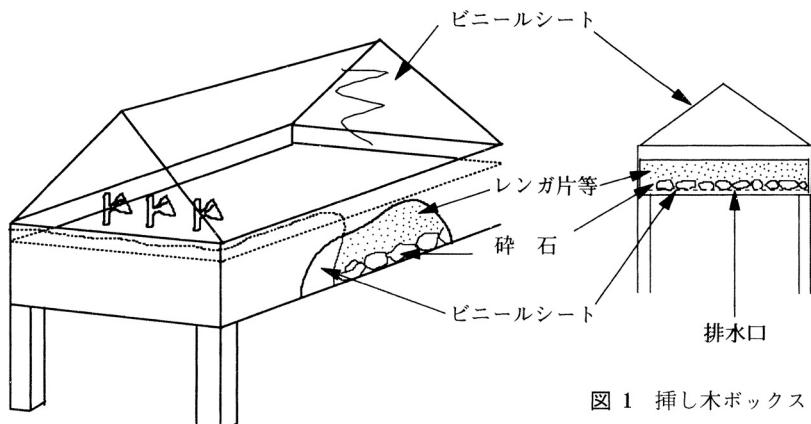


図1 挿し木ボックス

は、使用前に鉄板上で加熱滅菌した。

### 3. 試験手順

以下のような試験計画を立て、実験を行った。

#### ① 予備試験

6樹種の特性を調査し、適正な挿し床を選定することを目的とした。

材料；10, 40本/樹種。 土壌；川砂、レンガ片、川砂+レンガ片。

#### ② 小規模試験

実用化への問題点を調査するため、材料数を増やし試験を行った。

材料；100本/樹種。 土壌；川砂+レンガ片。

#### ③ 樹下試験

温室を造らなくてもよいように、樹下での試験の可能性を調査するため、マングiumアカシアの樹下に挿し木ボックスを置き試験を行った。

材料；400～600本/樹種。 土壌；川砂+レンガ片。

### 4. 予備試験

#### 対象樹種

*S. leprosula*, *S. johorensis*, *S. pauciflora*, *S. roxburghii*, *S. ovalis*, *Dryobalanops lanceolata* の6樹種を用いた。

#### 材料及び方法

表 1 予備試験結果

| 樹種                   | さし床  | 材 料 数 | 発根率(%) |       |
|----------------------|------|-------|--------|-------|
|                      |      |       | 3か月    | 4か月   |
| <i>S. leprosula</i>  | B+S* | 40    | 85.0   | 87.5  |
|                      | B    | 40    | 63.0   | 67.5  |
| <i>S. pauciflora</i> | B+S* | 40    | 65.0   | 70.0  |
|                      | B    | 40    | 53.0   | 53.0  |
| <i>S. johorensis</i> | B+S* | 40    | 72.5   | 87.5  |
|                      | B    | 40    | 58.0   | 82.5  |
| <i>D. lanceolata</i> | B+S* | 40    | 45.0   | 45.0  |
|                      | B    | 40    | 48.0   | 57.5  |
| <i>S. roxburghii</i> | B+S* | 40    | 100.0  | 100.0 |
|                      | B    | 40    | 98.0   | 98.0  |
| <i>S. ovalis</i>     | B+S* | 40    | 17.5   | 30.0  |
|                      | B    | 40    | 0      | 17.5  |

\*B+S：レンガ片：川砂=1:1；ホルモン：ルートンF（粉末）

表 2 予備試験結果 —木化の影響—

| 樹種                   | さし床  | 木化 | ホルモン | 材 料 数 | 発根率(%) |
|----------------------|------|----|------|-------|--------|
| <i>S. leprosula</i>  | 川砂   | L  | ルートン | 10    | 40     |
|                      |      | No |      | 10    | 10     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 10     |
|                      |      | No |      | 10    | 10     |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 80     |
|                      | レンガ片 | No |      | 10    | 60     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 40     |
|                      |      | No |      | 10    | 30     |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 10     |
| <i>S. pauciflora</i> | 川砂   | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      | レンガ片 | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 20     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 50     |
| <i>S. johorensis</i> | 川砂   | No |      | 10    | 10     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 10     |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      | レンガ片 | L  | ルートン | 10    | 50     |
|                      |      | No |      | 10    | 30     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 20     |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
| <i>D. lanceolata</i> | 川砂   | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      | レンガ片 | L  | ルートン | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 10     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 0      |
| <i>S. roxburghii</i> | 川砂   | No |      | 10    | 10     |
|                      |      | L  | ルートン | 10    | 10     |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 0      |
|                      |      | No |      | 10    | 0      |
|                      | レンガ片 | L  | ルートン | 10    | 50     |
|                      |      | No |      | 10    | 70     |
|                      |      | L  | 対照   | 10    | 60     |
|                      |      | No |      | 10    | 70     |

L:木化; No:木化していないもの; ルートン: ルートン F (粉末)

材料となる挿し穂は、1~2年生実生（高さ1m、地際径1cm）から剪定鉋で採取した。挿し穂は、葉を約1/2に切った第2節と第3節を用い、10cm間隔、深さ3~4cmで挿し木ボックス内に挿しつけた。また、材料が木化している枝条と木化していない枝条を用いて、木化が発根に及ぼす影響も調べた。

散水は、1日朝夕1回ずつを行い、温度、湿度及び照度を測定した。

発根促進剤として、インドネシア国内で市販されている“ルートンF”を粉末のまま使用し、対照区として、水をつけただけの処理区も設けた。

## 結果

4か月後の結果を表1に示した。*S. leprosula*, *S. johorensis*, *S. pauciflora*, *S. roxburghii*においては、70%以上の発根率が、また*D. lanceolata*では57.5%の発根率が得られたが、*S. ovalis*は30%と低率であった。挿し床には川砂とレンガ片の混合土が適しており、発根剤は若干の効果が認められた。また、木化の影響について試験した結果を表2に示したが、今回の試験では両者に差は認められなかった。

ボックス内の温度、湿度及び照度を測定した結果、温度変化については図2に示したように22~34°Cで変化しており、照度、湿度は各々580~5,000luxと82.6~89.6%であった。

これらの結果から、発根率が70%以上であった4樹種について、挿しつけ本数を100本に増やし、小規模試験を試みた。

## 5. 小規模試験

### 対象樹種

*S. leprosula*, *S. johorensis*, *S. pauciflora*, *S. roxburghii*の4樹種を用いた。

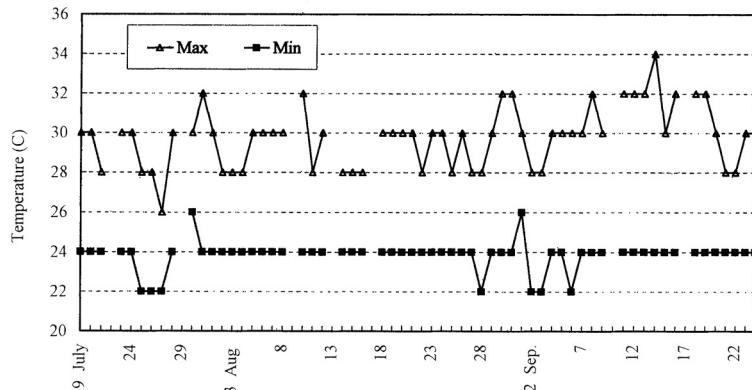


図2 挿し木ボックス内の温度変化

## 方 法

挿し床には、レンガ片と川砂の混合土を用いた。材料数は、*S. roxburghii* のみ 200 本とし、他の樹種は 100 本とした。

## 結 果

4か月後の結果を表 3 に示した。予備試験に比べ、発根率が若干低下したが、4 樹種とも 70% 以上の発根率が得られ、実用化への目途がついてきたと考えている。

### 6. 樹下試験

#### 材料および方法

前述の小規模試験において、発根率に関しては実用化の目途がついたが、従来行ってきた温室内挿し木法で苗木を大量生産しようとすると、大型の温室あるいは沢山の小型温室が必要となり、コスト高となってしまう。そこで、温室を必要としない挿し木法を実現するため、マンギウムアカシア林内の樹下試験を行った。

ボックスは通常使用している挿し木ボックスと同型のものを用い、これを 2 年生のマンギウムアカシア（樹高約 5m、植栽密度 2,500 本/ha）の下に置き、挿し木試験を行った。対象樹種は、*S. leprosula* と *S. roxburghii* の 2 樹種とし、挿し床にはレンガ片と川砂の混合土を用い、挿し穂にはルートン F の粉末を処理した。

## 結 果

樹下試験の結果を表 4 に示した。両樹種とも、温室内で行った小規模試験と同程度の発根率が得られたことから、樹下挿し木の実用性が示唆された。小規模試験と樹下試験の結果から、*S. leprosula* と *S. roxburghii* の 2 樹種に関しては実用段階に達したものと考え、

現在本格的に苗木生産を行うために、挿し木ボックスの増産を行っている。また、これらの結果から小規模試験において発根率が良かった樹種については、樹下で挿し木を行える可能性が高いと考え

表 3 小規模試験結果

| 樹種                   | 材料数 | 発根率 (%) |       |
|----------------------|-----|---------|-------|
|                      |     | 3か月     | 4か月   |
| <i>S. leprosula</i>  | 100 | 72.0    | 80.0  |
| <i>S. pauciflora</i> | 100 | 75.0    | 80.0  |
| <i>S. johorensis</i> | 100 | 53.0    | 72.5  |
| <i>S. roxburghii</i> | 200 | 94.0    | 100.0 |

\* さし床—川砂：レンガ片=1:1；ホルモンールートン F 粉末

表 4 屋外試験結果

| 樹種                   | 材料数 | 発根率 (%) |      |
|----------------------|-----|---------|------|
|                      |     | 3か月     | 4か月  |
| <i>S. leprosula</i>  | 400 | 67.8    | 79.0 |
| <i>S. roxburghii</i> | 600 | 82.7    | 92.5 |

\* さし床—川砂：レンガ片=1:1；ホルモンールートン F 粉末

られ、現在 *S. pauciflora*, *S. johorensis* の 2 樹種及びやや発根率は落ちるが *D. lanceolata* についても樹下試験を検討中である。なお、挿し木ボックスは 2 人で持ち運べるので、適当な照度の樹下に移動することが可能である。

### 今後の課題

現在、中規模試験（数千本単位）に向け、新温室（7 m × 15 m）が完成し、更には採穂園の育成、挿し木ボックスの増産を進めている。また、これまでに得た挿し木由来苗約 3,000 本の植栽試験を準備しており、'96 年 3 月から植栽を開始する予定である。同時に、フタバガキ科の苗木生産が更に安価で簡単になるように、挿し床土壤に関するもの、もみがら、碎石、ガンブット（乾燥させたシダの根）、腐朽倒木等の新たな材料を検討し、試験を繰り返し行っている。また、現在までに収集した 24 種のフタバガキ科に関しても、挿し木増殖試験を順次行う予定である。

## IV. おわりに

筆者らが、スブル実験林の研究に携わるようになって、RETROF や Bio-Refor を通じて色々な分野の方と知り合いになれたことが、現在何にもまして貴重な財産となっている。

最後に、この研究を実施するにあたり、数々のご助言、ご指導を頂いた東京大学農学部佐々木教授、同井出助教授に感謝の意を表するとともに、現地で奮闘して頂いている PT. KUTAI TIMBER INDONESIA の SUNYOTO 氏と ERWINDA 氏に感謝する。また、筆者の一人であり、この 4 月をもって本研究から退く木村氏と、2 年間ではあったが共に汗を流せたことを大変嬉しく思う。

※ 研究メンバー 和田嘉弥 [PT. KUTAI TIMBER INDONESIA]、高原省吾、曾田 良、中村健太郎 [住友林業（株）筑波研究所] 小林紀之、土居 望、木村信司 [同グリーン環境室]

※ 協 力 東京大学農学部、Ministry of Forestry, Republic of Indonesia (Agency for Forestry Research and Development)

〔参考文献〕 1) D.S. GUNASEKARA, E.S. SCOTT and A.N. RAO (1988), Somatic Cell Genetics of Woody Plants. Kluwer Academic Publishers, 137-141 2) Eileen S. SCOTT, A.N. RAO and C.S. LOH (1988), Production of Plantlet of *Shorea roxburghii* G. Don from Embryonic Axes Cultured *In Vitro*. Annals of Botany 61, 223-236 3) Lu-Min VAARIO, Yasuhiro OTOMO, Ryo SODA and Yuji IDE (1993), *In Vitro* Micropropagation of the Axillary Branches of *Shorea leprosula*. J. Jpn. For. Soc. 75 (4), 375-376