

熱帯有用樹木種子の凍結保存

丸山 E. 毅・細井佳久 (森林総合研究所)

要旨: 熱帯有用樹種 5 種, マホガニー (*Swietenia macrophylla*), セドロ (*Cedrela odorata*), ボライナブランカ (*Guazuma crinita*), ボライナネグラ (*Guazuma ulmifolia*) およびゴマワヨパシヤコ (*Parkia oppositifolia*) を用いて, 長期保存のため, 種子の超低温保存の予備的実験を行い, 液体窒素保存後の生存率を調べた。液体窒素中で保存した後, 対照区と比較すると, いずれの種も発芽率に著しい差異は見られなかった。また, 保存期間が種子の生存率へ及ぼす影響については, 異なる保存期間後の発芽率の差異は認められなかった。一方, 液体窒素保存後に行った発芽試験では, 保存した種子が非常によく揃って発芽し, 対照区よりも試験期間が短かった。

キーワード: 熱帯樹木, 熱帯種子, cryopreservation, 凍結保存, 液体窒素

I はじめに

熱帯林の再生や種多様性の保全において, 樹木遺伝資源の保存は重要である。種子の超低温保存は, 長期保存のための一つの技術であり, 遺伝資源の恒久的保存手法としてきわめて重要な意義を持っている。種子の貯蔵性は種によって大きく異なり, 難貯蔵性種子を除いて, 一般に普通種子の場合はある程度長期保存が可能であることから, 世界中に種子の保存が行われている。

今回は, ペルーアマゾンで有望な造林樹種とされている熱帯有用樹種 5 種, マホガニー (*Swietenia macrophylla*, センダン科), セドロ (*Cedrela odorata*, センダン科), ボライナブランカ (*Guazuma crinita*, アオギリ科), ボライナネグラ (*Guazuma ulmifolia*, アオギリ科) およびゴマワヨパシヤコ (*Parkia oppositifolia*, マメ科) を用いて, 長期保存のため, 種子の超低温保存の予備的実験を行い, 液体窒素保存後の生存率を調べた。マホガニーとセドロは, 中南米熱帯地域にかけて分布し, 熱帯各地で植えられ, 材質が優れていることから, 欧米では昔から最高級家具, 建築内壁, キャビネット, シガーボックスなどに利用されている。ボライナブランカ, ボライナネグラおよびゴマワヨパシヤコは, 多目的樹種や早成樹種であるため, 有望な造林樹種として注目されている。我々は現在まで, これらの樹種について種子の常温保存や低温保存を行っており, ある程度中期間保存が可能であることが確認できた。そこで今回は, 長期保存を目指して, 種子の超低温保存条件を検討した。

II 実験方法

1. 各種の種子の形態別寸法, 重量および含水率 今回は, 約 1 年間 4℃で保存した種子を用いた (図-1)。

表-1 に各種の種子の形態別寸法, 重量および含水率を示した。

2. 凍結保存の手順 種子はクライオチューブに入れ, アルミニウムケーンに固定し, 液体窒素タンクに 1 時間 ~ 1 ヶ月保存した。液体窒素から取り出したチューブは, 40℃の温水に浸漬し, 2-3 分間保持してから室温まで戻した。

3. 発芽試験 クライオチューブから取り出した種子は, 70%エタノールで 3-5 分間, そのあと 1-5% 次亜塩素酸ナトリウム (アンチホルミン) で 15-45 分間表面殺菌した (表-2)。種子を滅菌水で洗浄した後, 2% スクロースと 0.6% 寒天を添加した 1/4MS 培地に移し, 25℃および 16 時間照明 (3,000-5,000 lx) の環境下で発芽試験を行った。発芽試験に用いた種子の個数は, マホガニーとゴマワヨパシヤコに 25 個, セドロに 50 個, ボライナブランカとボライナネグラに 100 個, いずれも 5 回の繰り返しで発芽率の調査を行った。また, ゴマワヨパシヤコの種皮は容易に水分を透さないため (1), 発芽前処理としてサンドペーパーすりつけ処理を行った。

III 結果と考察

表-3 に液体窒素タンクで 1 日間保存した後, 加温した種子の発芽率を示した。液体窒素中で保存しなかった種子 (対照区) に比べ, 5 種の内 3 種 (マホガニー, セドロとボライナネグラ) の発芽率に著しい低下は見られず, 逆に 2 種 (ボライナブランカとゴマワヨパシヤコ) の種子では, 対照区よりも高い発芽率が得られた。いずれも発芽率の差異は見られなかったが, 液体窒素保存後に行った発芽試験では, 保存した種子が非常によく揃って発芽し, 対照区よりも試験期間が短かった。

このような結果は、他の多数の種にも報告されており、低温や加温の物理的な処理の刺激によるものと考えられる。また、保存期間が種子の生存率へ及ぼす影響については、表一4に示すようにボライナブランカとボライナネグラ種子の場合は、異なる保存期間後の発芽率の差異は認められなかった。

引用文献

- (1) MARUYAMA, E. and UGAMOTO, M. (1989) Treatments for promoting germination of *Parkia oppositifolia* BENTH and *Schizolobium amazonicum* HUBER seeds. J. Jpn. For. Soc. 71(5): 209-211

表一1. 種子の形態別寸法, 重量および含水率 *

樹種	種子の寸法			重量 (mg)	含水率 (%)
	長さ (mm)	巾 (mm)	厚さ (mm)		
<i>S. macrophylla</i> **	20.76	11.90	3.54	499.80	10.75
<i>C. odorata</i> ***	9.06	4.86	0.63	22.85	14.96
<i>G. crinita</i>	1.62	-	1.32	1.33	11.20
<i>G. ulmifolia</i>	2.92	2.17	1.51	5.55	15.50
<i>P. oppositifolia</i>	17.19	9.00	6.21	717.94	13.96

* 30個の平均 ** 種皮なし *** 翼なし

表一2. 種子の表面殺菌法

樹種	種子表面殺菌法			
	エタノール	アンチホルミン	滅菌水	
<i>S. macrophylla</i>	70% 3分	1% 15分	5回	
<i>C. odorata</i>	70% 3分	5% 15分	5回	
<i>G. crinita</i>	70% 3分	5% 30分	5回	
<i>G. ulmifolia</i>	70% 3分	5% 30分	5回	
<i>P. oppositifolia</i>	70% 3分	5% 45分	5回	

表一3. 種子の超低温保存後の発芽率

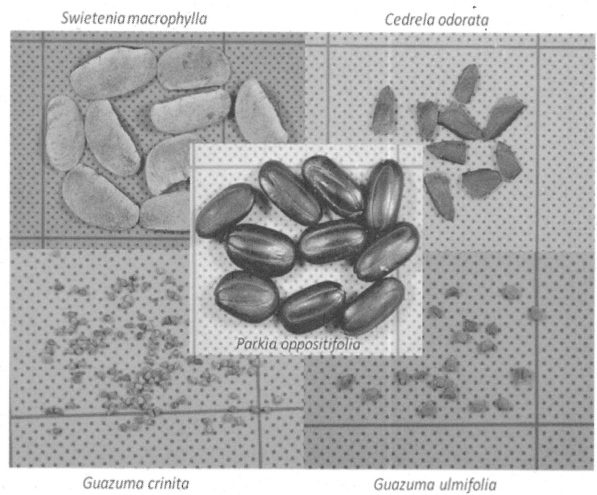
樹種	発芽率 (%)	
	対照	液体窒素保存*
<i>S. macrophylla</i>	79.2	77.6
<i>C. odorata</i>	65.2	63.6
<i>G. crinita</i>	43.2	45.2
<i>G. ulmifolia</i>	77.4	76.0
<i>P. oppositifolia</i>	92.0	93.6

*液体窒素タンクで1日間保存

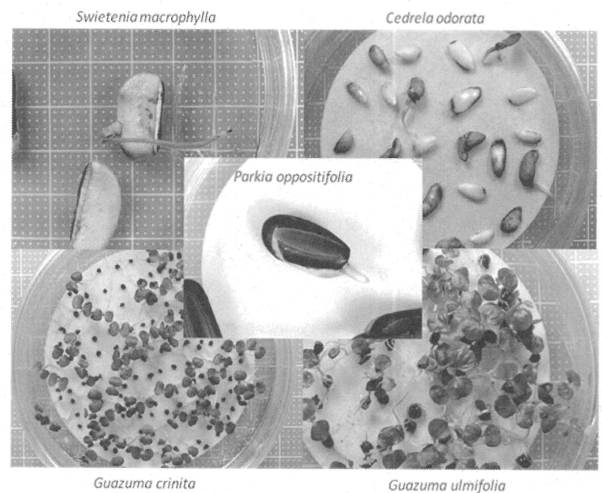
今回のように、きわめて簡便な処理で超低温保存によって、熱帯樹木種子の生存率を長期間維持できることが明らかになった。しかし、一般に普通種子の場合でも種によって大きく差が認められる。今後は、至適な保存条件を解明するため、難貯蔵性種子に属するものも含む熱帯樹木代表種子の最適乾燥条件を調べる必要がある。

表一4. 保存期間の異なる種子の超低温保存後の発芽率

樹種	発芽率 (%)				
	対照	液体窒素保存			
		1時間	1日	1週間	1ヶ月
<i>G. crinita</i>	43.2	42.0	45.2	44.6	47.4
<i>G. ulmifolia</i>	77.4	75.4	76.0	78.2	75.6



図一1. 供試した種子の様子



図一2. 超低温保存した種子の発芽