

組織培養による優良個体の増殖技術に関する研究

— 山菜等野生資源の増殖 —

(県単課題 平成6年～平成10年)

古川 成治

青野 茂

目 次

要 旨	49
I 緒 言	50
II 材料及び方法	51
1. ハクサンシャクナゲの組織培養による個体の増殖	51
2. 試験管内胞子培養によるゼンマイの種苗生産法	52
3. シオデ大量増殖系の開発	53
III 結果と考察	54
1. ハクサンシャクナゲの組織培養による個体の増殖	54
2. 試験管内胞子培養によるゼンマイの種苗生産法	56
3. シオデ大量増殖系の開発	59
IV 引用文献	60

要 旨

組織培養の技術を用いてハクサンシャクナゲの増殖をおこない、次のような結果が得られた。初代培養では、2 iP の量が5から20mg/lの範囲で多芽体が形成され、得られた多芽体を低濃度のサイトカイニン(2 iP 2 mg/l)で継代培養することによりシュートの伸長が確認された。しかし、初代培養の2 iP の濃度が高くなると1 cm以上のシュート数が減る傾向にあったことから、初代培養には5 mg/lの2 iP が適していた。また、発根操作では、1 cm以上のシュートにオキシベロン粉剤0.5%を付けてから用土に差し付ければ100%発根することが確認され、非無菌下での発根操作は簡単にできることが判明した。多芽体の形成が容易なこと及び非無菌下での発根が可能なことから大量増殖の可能性が示された。

ゼンマイの胞子からの栽培を無菌下で試みた結果、次のようなことが判明した。前葉体の培養には、1/2 MS 培地のショ糖30g/lが適していた。胞子体の発生には、ジベレリン0.01mg/l添加すると、対照の2.2倍の胞子体を得られることがわかった。胞子体の成長に関しては顕著な差は認められなかつ

たが、1/2 NMS 培地のショ糖30g/lが適していた。前葉体から分離し3ヶ月経過した胞子体を用いて根の部分の水ごけでくるんで馴化したところほぼ100%馴化可能であった。胞子をまいてから馴化苗を作成するまでに、胞子無菌播種から前葉体発生までに1ヶ月、前葉体の増殖に2ヶ月、ジベレリン処理に4ヶ月、無菌状態での胞子体の成長に3ヶ月、合計10ヶ月と1年以内で完了する。また、前葉体は一部分を切りわけることにより大量増殖が可能であり、胞子体の発生が可能な前葉体が常に存在することになるため、一度培養系が確立すれば苗の供給を安定して行えることがわかった。

シオデを材料に、不定胚を利用しての大量増殖が可能か検討し、次のような結果が得られた。2,4-DにBAPを添加した試験区では、エンブリオジェニックカルスを誘導すると考えられる緑色カルスが高頻度で形成された。カルスからの不定胚の再生を見てみると、ホルモン無添加では、再生せず、BAP添加区からのみシュートが発生してきたので、今回得られたカルスはエンブリオジェニックカルスでない可能性がある。不定胚を得るためには、カルスの継代を長く続けるか、もしくはカルスの誘導方法を変える必要があると思われた。

I 緒 言

最近、山菜・山野草等の野生資源は、いたるところで乱獲され資源量が減少している。このため、需要が期待できる山菜、山野草の大量増殖、育苗期間の短縮等について、組織培養・試験管内での利点を利用した増殖を行い、山菜及び山野草苗の大量増殖について検討した。

この研究では、対象品目をハクサンシャクナゲ、ゼンマイ、シオデとした。

ハクサンシャクナゲ(*Rhododendron fauriae* FRANCH.)はツツジ科に属する植物で、ヤエハクサンシャクナゲの原種である。ヤエハクサンシャクナゲは、昭和29年に福島県の花として指定され、福島県を代表する名花として知られるようになった。自生地が少なく、かつ、植物学上貴重な存在とされている本種の増殖は非常に難しく、増殖手段がない。そこで、組織培養の技術を用いて再生個体が得られるか試験を行った。今回の実験では原種のハクサンシャクナゲのみの培養実験である。

ゼンマイ(*Osmunda japonica* Thunb.)は、日本全土の山地や原野に分布する多年生のシダ植物で、特に積雪の多い地方に大型で良品質のものが自生している。食用になるのは若芽状の新葉であり、干したものは古くから保存食として利用されてきた。前課題¹⁾で試験管内での胞子栽培により簡単に苗が生産されることが示されたので、特に組織培養の技術そのものを利用してはいないが、試験管内を利用しての培養系の確立を試みた。

シオデ(*Smilax riparia* A. DC)は山菜の王様と言われ、日本各地及び台湾、朝鮮、フィリピンの温帯に分布し、原野や林縁に生えるユリ科シオデ属のつる性多年草である。葉柄基部に巻きひげがあり、他の植物にからみついて伸長する。雌雄異株で、若芽部分が山菜として食用にされる。シオデについては前課題¹⁾で、茎頂培養及びPLB利用による増殖方法が確立したが、増殖効率はあまりよくなく、不定胚を利用しての大量増殖が可能か検討した。

II 材料及び方法

1. ハクサンシャクナゲの組織培養による個体の増殖

(1) 初代培養

① 目的

不定芽の形成状況を調べるための植物ホルモン濃度の検索を行った。

② 材料及び調整

供試材料は当場内に植栽してあるハクサンシャクナゲ(14年生)の冬芽を用いた。

2 cmほどの冬芽を採取し、100倍のオスバンに10分間、70%エタノールに1分間、さらにアンチホルミン(有効塩素分0.5%)で10分間表面殺菌を行った。滅菌水で3回洗浄後、生長点を切り出した。

③ 培地及び培養条件

基本培地には、Anderson 培地²⁾を用いた。これに、ショ糖30g/l、寒天 8 g/l 入れ、実験に応じて各種植物ホルモンを添加し、pH は5.5に調整した。材料調整後、培地10ml入った25×100mmの試験管に植え付けた。

置床後1週間は22℃で暗処理を行い、その後、16時間日長、3,000Lux、22℃の人工照明室で行った。

④ 試験及び調査方法

基本培地のほかに、1 mg/l のインドール酢酸(IAA)に5、10、20mg/l のイソペンテニルアデニン(2 iP)の3処理区及びホルモン無添加の計4処理区とし、各処理区あたり10本とした。4週間隔で同一組成の培地に移し変え、12週間後の生存数及び多芽体の形成状況を調査した。

(2) 継代培養

① 目的

初代培養で発生した不定芽はすべて多芽体になりシュートの数は増加したが、発根培地に移植可能な1 cm以上のシュートはまったく得られなかった。このため、初代培養で得られた多芽体を発根培地に移植可能な1 cm以上のシュートに伸長させるにはどのような方法で行うのがよいか検討する。

② 材料及び調整

初代培養で得られた多芽体を材料に用いた。

③ 培地及び培養条件

基本培地には、Anderson 培地を用いた。これに、ショ糖30g/l、寒天 8 g/l 入れ、実験に応じて各種植物ホルモンを添加した。培地50ml入った200mlの培養フラスコを用い、pH は5.5に調整した。培養は、16時間日長、3,000Lux、22℃の人工照明室で行った。

④ 試験及び調査方法

初代培養で得られた3試験区が多芽体をそれぞれ継代培地(基本培地に、2 iP を 2 mg/l 加えた培地)に移植した。これらの多芽体を培養開始後4週間目に同一組成の培地に継代し、8週間後

に1 cm以上のシュート数を調査した。

(3) 発根操作

① 目的

継代培養で1 cm以上に伸びたシュートを材料に発根条件について検討した。

② 材料及び調整

継代培養で得られた1 cm以上に伸びたシュートを材料に用いた。

③ 培地及び培養条件

発根培地には滅菌のしていないピートモスを用いた。培養条件は、12時間日、長3,000Lux、20℃の非無菌下の馴化室で行った。

④ 試験及び調査方法

ホルモン剤として、オキシベロン粉剤0、0.5、1%の3試験区とし材料を調整後、オキシベロン粉剤を付けてから用土にさし付けた。調査は4週間後に行い、発根率、発根数、根の長さを測定した。

2. 試験管内孢子培養によるゼンマイの種苗生産法

(1) 前葉体の培養条件の検討

① 目的

前葉体の培養に適した培地組成を検索するために基本培地の検索及びショ糖濃度の検索を行った。

② 材料及び調整

材料は、福島県林業試験場の構内より採取したゼンマイの孢子を使用した。殺菌方法は、70%エタノールで1分間、有効塩素1%の次亜塩素酸ナトリウム液で5分間行った。滅菌水ですすいだ後、孢子嚢が付着している部分を約5 mmに切りMS培地にショ糖を30g/l、寒天8 g/l添加した固形培地上へ置床した。孢子嚢をまいてから1ヵ月もすると前葉体が発生してくるのでこの前葉体を材料に以下の実験に供した。

③ 培地及び培養条件

培養条件については、温度 22 ± 1 ℃、照明は3,000Luxの16時間/日とした。基本培地はMS培地を使用し、培地のpHはすべて6.0とした。

④ 試験及び調査方法

基本培地の検索としては、MS培地³⁾を改変したもので、MS、1/2 NMS、1/2 MS、1/4 MS培地の4培地とし、ショ糖を30g/l添加した4試験区を設定した。ショ糖濃度別試験では1/2 MS培地を基本培地とし、ショ糖を0、10、30、50g/l添加した4試験区を設定した。各処理区共に200mlの培養フラスコを用い、液体培地を50ml分注した。各処理区ごとの供試数は、1フラスコあたり前葉体6個とし1試験区あたり4フラスコ使用し合計24個の前葉体を使用した。前葉体の成育状況を観察し8週間後に1個あたりの大きさ及び乾重量を測定した。

(2) 孢子体の発生条件の検討

① 目的

前葉体の塊をそのまま培養し続けると自然に孢子体が発生してくるが、孢子体を大量に発生さ

せるための条件を検討するために、ジベレリン添加の効果を検討した。

② 材料及び調整

供試材料は、前葉体を1/2 MS 液体培地にシヨ糖30g/l 添加した培地で2ヵ月培養し塊になったものを使用した。

③ 培地及び培養条件

培養条件については、温度 22 ± 1 ℃、照明は3,000Lux の16時間/日とした。基本培地はMS 培地を使用し、培地のpH はすべて6.0とした。各処理区共に200mlの培養フラスコを用い、培地を50ml分注した。

④ 試験及び調査方法

基本培地として1/2 MS 液体培地を用い、シヨ糖30g/l 添加し、ジベレリン0、0.01、0.1、1 mg/l の4処理区を設定した。各処理区ごとの供試数は、1フラスコあたり前葉体の塊2個とし1試験区あたり4フラスコ使用し計8個の前葉体を使用した。1ヵ月おきに4ヵ月間胞子体の総発生数を調査した。

(3) 胞子体成長条件の検討

① 目的

前葉体から発生した胞子体の成長に適した培地を検討するために基本培地及びシヨ糖濃度について検討した。

② 材料及び調整

前葉体から発生した胞子体を使用した。

③ 培地及び培養条件

培養条件については、温度 22 ± 1 ℃、照明は3,000Lux の16時間/日とした。基本培地はMS 培地を使用し、寒天8g/l 添加し固体培地として試験を行った。培地のpH はすべて6.0とした。200mlの培養フラスコを用い、固体培地を50ml分注した。

④ 試験及び調査方法

MS、1/2 NMS、1/2 MS、1/4 MS 培地の4培地とし、シヨ糖をそれぞれ10、30g/l 添加した8種類の処理区を設定した。試験区ごとの供試数は、1フラスコあたり胞子体3本とし1試験区あたり4フラスコ使用し計12本の胞子体を使用した。12週間後に葉柄及び根の数及び長さを測定した。

3. シオデ大量増殖系の開発

(1) カルスの誘導

① 目的

不定胚を誘導するエンブリオジェニックカルスの誘導条件について検討する。

② 材料及び調整

供試材料は、2ヵ月間隔で継代培養を行っている茎及び根を材料とした。メスで5mmに切断したものを使用した。

③ 培地及び培養条件

培養条件については、温度 22 ± 1 ℃の暗条件とした。基本培地はMS培地を使用し、寒天8g/l添加し固体培地として試験を行った。培地のpHはすべて5.8とした。200mlの培養フラスコを用い、固体培地を50ml分注した。

④ 試験及び調査方法

〔実験1〕

MS培地を基本培地として使用し、2,4-D(0、0.2、2.0mg/l)、ABA(0、5、10mg/l)、シヨ糖(25、50g/l)を組み合わせて添加した18試験区を設定した。

〔実験2〕

MS培地にシヨ糖25g/lを基本培地として使用し、オーキシシンとして2,4-D(2、4mg/l)を使用し、サイトカイニンとしてはBAP、Kin、2iP、Zeatinをそれぞれ単独で0.2、2mg/l添加し、これを組み合わせて添加した16試験区を設定した。実験2では、材料は茎のみを用いた。2つの実験ともに、1試験区あたり各12個とした。1ヵ月ごとに継代を行い、2ヵ月後にカルスの形成条件を検討した。

(2) カルスから不定胚の再生

① 目的

エンブリオジェニックカルスから不定胚の誘導条件について検討する。

② 材料及び調整

供試材料は、2ヵ月間隔で継代培養を行っているカルスを材料とした。メスで5mm角に切断したものを使用した。

③ 培地及び培養条件

培養条件については、温度 22 ± 1 ℃、照明は3,000Luxの16時間/日とした。基本培地はMS培地を使用し、シヨ糖25g/l、寒天8g/l添加し固体培地として試験を行った。培地のpHはすべて5.8とした。200mlの培養フラスコを用い、固体培地を50ml分注した。

④ 試験及び調査方法

MS培地を基本培地として使用し、BAP0、2mg/lを添加した2試験区を設定した。1試験区あたり各12個とした。2ヵ月後に不定胚及び不定芽の形成数を測定した。

Ⅲ 結果と考察

1. ハクサンシャクナゲの組織培養による個体の増殖

(1) 初代培養

表-1は初代培養の結果で、培養12週間後の不定芽形成状況を示した。表-1に示すとおり雑菌汚染は見られなかったが、植物ホルモン無添加の処理区では、供試した10個体すべてが枯損してしまった。また、植物ホルモンを添加した処理区では供試した植物10個体のうち生存数で6~7個体、このうち不定芽を形成したものは3~4個体であった。植物ホルモンの濃度差による不定芽の形成数

には大きな差は見られず、初代培養の最適ホルモン濃度を把握することはできなかった。また、2 iP の量が最低でも 5 mg/l と高濃度なためか不定芽はすべて 2 mm 位でその中の芽は伸長しなかった。しかし、芽の数は増加して多芽体(写真-1)になったので大量増殖の可能性があることが示された。

表-1 培養12週間後の多芽体の形成状況

ホルモン濃度 (mg/l)	供試数 (個)	生存数 (個)	カルス化数 (個)	多芽体形成数 (個)	害菌汚染数 (個)
0	10	0	0	0	0
2 iP 5, IAA 1	10	6	0	4	0
2 iP10, IAA 1	10	6	2	4	0
2 iP20, IAA 1	10	7	0	3	0

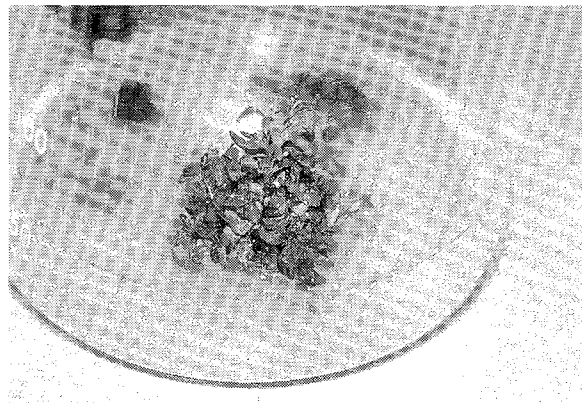


写真-1 ハンサンシャクナゲ多芽体形成状況

(2) 継代培養

表-2 は継代培養の結果で、移植8週間後のシュート伸長状況を示した。

初代培養の植物ホルモン濃度毎に見ていくと 1 mg/l の 1 AA に 5、10 mg/l の 2 iP で誘導した 4 つの多芽体からはそれぞれ 26、21本の 1 cm 以上のシュートが得られた。また、1 mg/l の 1 AA に 20 mg/l の 2 iP で誘導した 3 つの多芽体より 4 本のシュートが得られた。これらのことから低濃度のサイトカイニン(2 mg/l 2 iP)で継代培養を行うことによりシュートの伸長が確認されたが、2 iP の濃度が高くなるにしたがい、1 cm 以上のシュート数が減ることから 5 mg/l の 2 iP が適していると考えられた。

表-2 移植8週間後のシュート伸長状況

ホルモン濃度 (mg/l)	初代培養の ホルモン濃度	多芽体 供試数 (個)	1 cm 以上の シュート数 (本)	平均 シュート数 (本)
2 iP 2	2 iP 5, IAA 1	4	26	6.5
2 iP 2	2 iP10, IAA 1	4	21	5.3
2 iP 2	2 iP20, IAA 1	3	4	1.3

(3) 発根操作

表-3 は発根操作の結果で、発根操作後4週間後の発根状況を示した。3試験区共に発根率は

100%であったが、ホルモン剤無添加の試験区では発根数が2本と少なく、逆にホルモン剤1%の試験区では発根数は5.8本であったが根長は4.4mmと短めとなった。ホルモン剤0.5%

表-3 4週間後の発根状況

ホルモン剤* (%)	試供数 (本)	発根率 (%)	平均発根数 (本)	平均伸長 (mm)
0	10	100	2.0	5.1
0.5	10	100	6.8	6.5
1.0	10	100	5.8	4.4

* ホルモン剤は、オキシベロン粉剤を使用

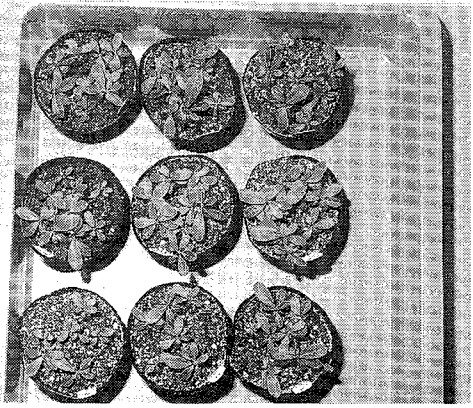


写真-2 ハクサンシャクナゲ馴化状況

上列：オキシベロン1%粉剤 中列：オキシベロン0.5%粉剤
 下列：オキシベロン無添加

の試験区では発根数が6.8本、平均根長が6.5mmであった(写真-2)。

このことから、ホルモン剤は、オキシベロン粉剤0.5%を使用すれば十分であり、非無菌下での発根操作は比較的簡単にできることが判明した。

以上のとおり、ハクサンシャクナゲの増殖については、茎頂培養を行うと多芽体が形成するために、一度培養系が確立すれば大量増殖の可能性があることが示された。

2. 試験管内胞子培養によるゼンマイの種苗生産法

(1) 前葉体の培養条件の検討

培養濃度別による前葉体の増殖量の調査結果を図-1に示した。前葉体の大きさについては、MS培地では $1.5 \pm 0.4 \text{ cm}^3$ 、その他の培地では 2.7 ± 0.4 から $3.2 \pm 0.6 \text{ cm}^3$ となり、MS培地を除く3つの培地濃度では顕著な差は認められなかった。また、乾重量については、 42.8 ± 5.8 から $61.8 \pm 4.9 \text{ mg}$ の範囲となり、今回使用した培地濃度の中で最大値を示したのは1/2 MS培地であった。

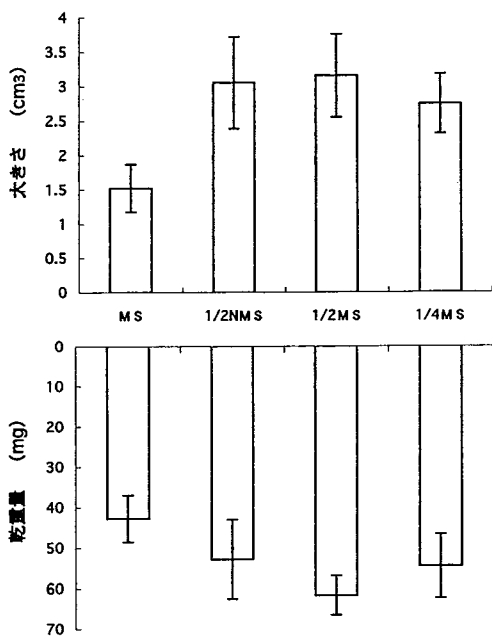


図-1 培地濃度別前葉体成長量の比較
 I: 標準誤差

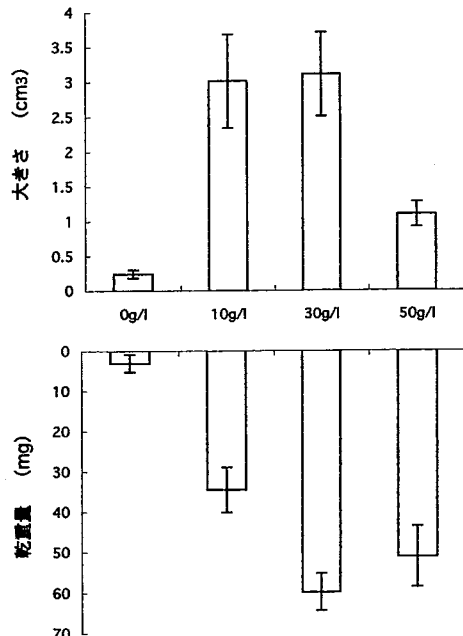


図-2 ショ糖濃度別前葉体成長量の比較
 I: 標準誤差

シヨ糖濃度別前葉体の増殖値の調査結果を図-2に示した。シヨ糖10g/lの試験区では $3.0 \pm 0.7 \text{ cm}^3$ と大きくなったが、乾重量は $34.6 \pm 5.6 \text{ mg}$ と低めの値となった。50g/lの試験区では10g/lとは逆にカルス化し小さくなったが、乾重量は $51.2 \pm 7.5 \text{ mg}$ と重くなった。また、シヨ糖無添加の試験区ではほとんど成長しないことが示された。大きさ、乾重量ともに良かったのが30g/lの試験区で大きさが $3.1 \pm 0.6 \text{ cm}^3$ 、乾重量は $59.9 \pm 4.6 \text{ mg}$ となった。このことから前葉体の培養には、1/2 MS培地のシヨ糖30g/lが適していた。

(2) 胞子体の発生条件の検討

胞子体の総発生数を図-3に示した。4ヵ月間の胞子体発生状況を見ると1ヵ月後から顕著な差が見られ、ジベレリン0.01mg/lの試験区はいずれの時期も胞子体の発生量が対照より多かった。また、4ヵ月間の総発生数を見ると、前葉体の塊1個あたり対照では6.3個の胞子体を得られたのに対し、ジベレリン0.01mg/lでは14個と対照の2.2倍の胞子体を得られることがわかり、ジベレリン添加の有効性が示された。

(3) 胞子体成長条件の検討

基本培地及びシヨ糖濃度別成長量の調査結果を表-4に示した。葉柄長に関しては

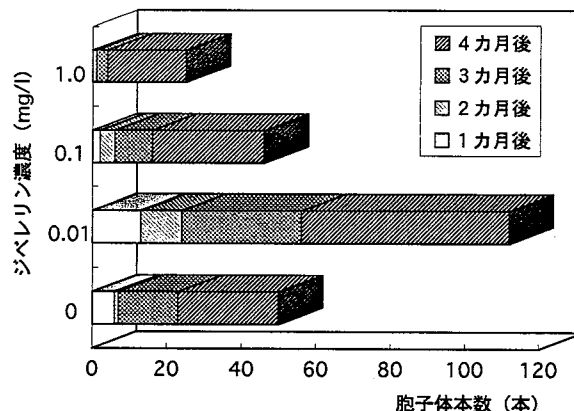


図-3 ジベレリン濃度別胞子体発生量の比較

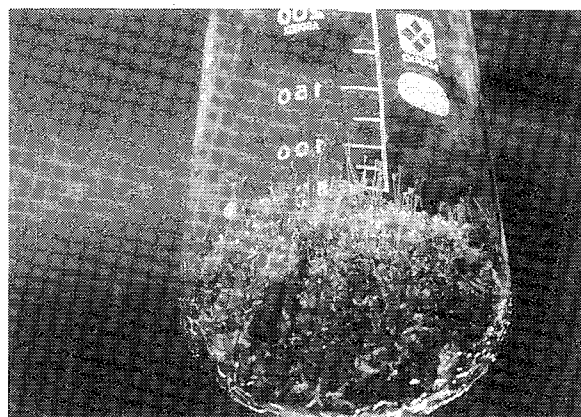


写真-3 前葉体より胞子体の発生状況



写真-4 前葉体より切りわけた胞子体

表-4 培地及びシヨ糖濃度別胞子体成長量の比較

	培 地 濃 度							
	MS		1/2 NMS		1/2 MS		1/4 MS	
	シヨ糖濃度(g/l)							
	10	30	10	30	10	30	10	30
葉柄長	9.5±2.6	9.1±2.8	12.6±2.2	12.9±1.5	12.4±2.1	12.9±1.0	10.6±2.5	10.3±2.4
根長	6.0±2.3	11.1±2.3	9.3±1.8	10.9±1.2	11.7±2.0	11.2±0.9	12.6±3.2	15.0±4.7
葉柄数	8.0±1.6	8.8±2.2	10.4±1.7	10.0±0.9	10.0±1.0	9.8±2.4	9.4±2.2	9.4±1.7
根数	9.8±3.8	8.6±3.8	9.4±1.8	9.4±1.8	8.4±1.1	8.6±1.8	8.0±1.9	8.3±2.1

数値は平均値±標準誤差

9.1±2.8mmから12.9±1.5mmの範囲となり、1/2 NMS もしくは1/2 MS 培地のショ糖30g/lの試験区が比較的良い成育を示した。根長に関しては6.0±2.3mmから15.0±4.7mmで、培地濃度がうすくなるに従って根が長くなる傾向を示した。葉柄数及び根数に関しては8～10本の範囲であり顕著な差は認められなかった。また、葉色について見てみるとショ糖濃度にはあまり左右されず培地濃度が濃くなるのに比例して緑色が濃くなる傾向を示した。以上の結果、胞子体の成長に関しては顕著な差は認められなかったが、葉柄長、葉柄数、根数が上位に位置されているのと、葉色をあわせて考えると1/2 NMS 培地のショ糖30g/lが適していた。

胞子体を分離し3ヶ月経過した胞子体を用いて根の部分の水ごけでくるんで馴化したところほぼ100%馴化可能であった。以上のとおり、試験管内で培養を行うと胞子をまいてから馴化苗を作成するまでに、胞子無菌播種から前葉体発生までに1ヵ月、前葉

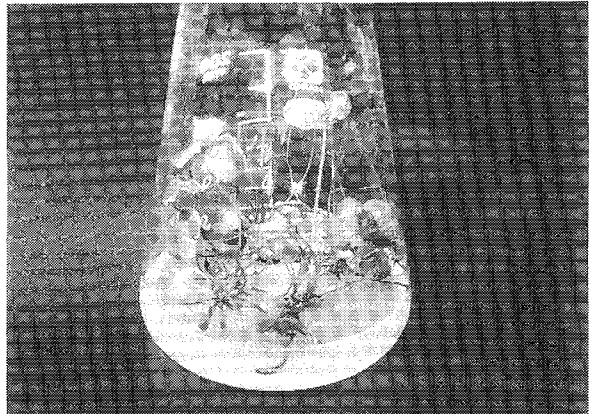


写真-5 前葉体より分離3ヶ月後の胞子体の成長状況

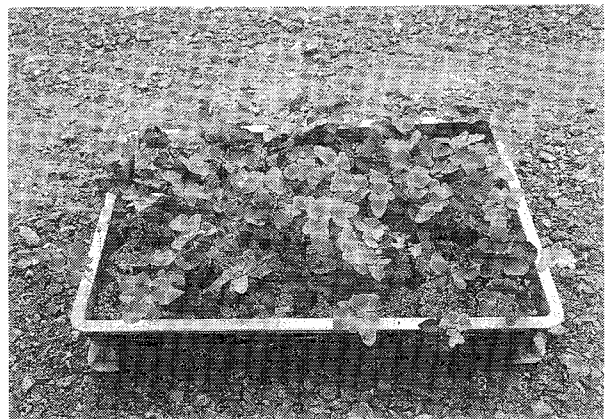


写真-6 馴化1年後の胞子体の成長状況

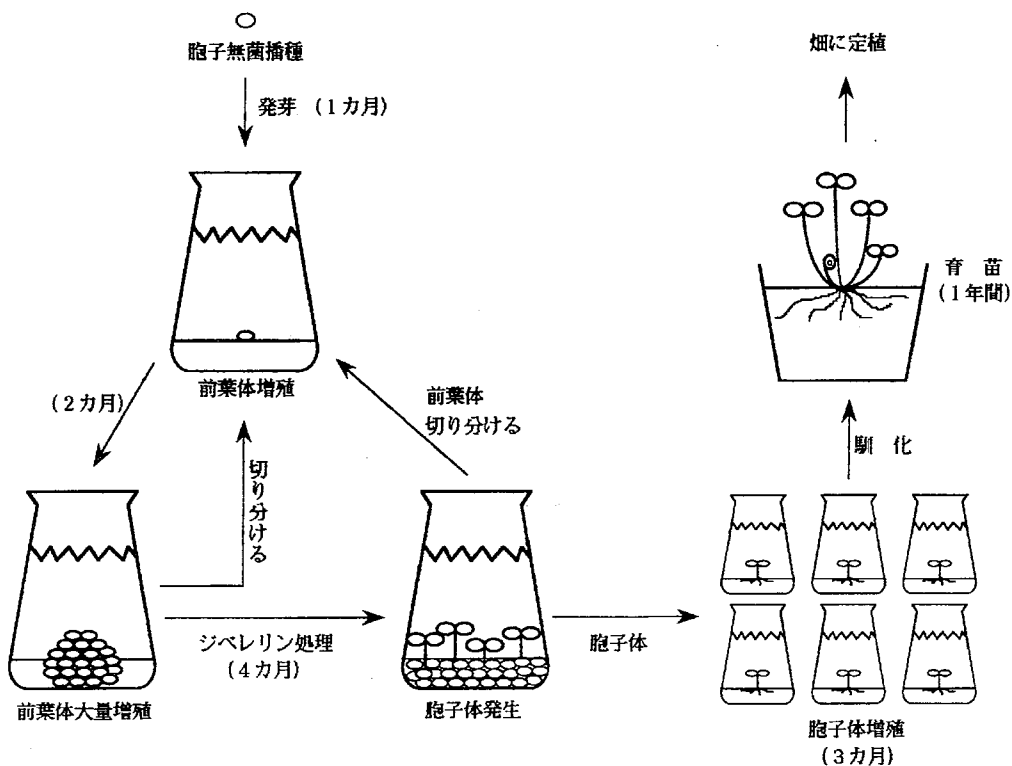


図-4 ゼンマイの試験管内胞子培養による幼植物体の大量増殖

体の増殖に2ヵ月、ジベレリン処理に4ヵ月、無菌状態で胞子体の成長に3ヵ月、合計10ヵ月と1年以内で完了する(図-4)。また、河合⁴⁾が示しているように馴化後1年間(写真-6)で草丈が20cm以上になり苗畑に移植できるので2年間で苗を育成できる。さらに、前葉体は一部分を切り分けることにより大量培養が可能であり、胞子体の発生が可能な前葉体が常に存在することになるため、一度培養系が確立すれば苗の供給を安定して行えることがわかった。

3. シオデ大量増殖系の開発

(1) カルスの誘導

実験1の結果を、表-5、6に示した。すべての試験区で、カルスが形成されなかった。

実験1の試験区ではカルスが形成されなかったので、ホルモン条件を変えて試験を行った。実験2の結果を、表-7に示した。Zeatinを添加した試験区では、変化は認められなかった。Kin、2iPを添加した試験区では、低い頻度でカルスは形成されたが、それらはすべて白色カルス(写真-7)

表-5 植物ホルモン及びシヨ糖濃度別カルス形成状況(茎)

		シヨ糖 (g/l)					
		25			50		
		2,4-D (mg/l)					
		0	2.0	2.0	0	0.2	2.0
ABA (mg/l)	0	S(2/12)	R(1/12)	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N
	10	N	N	N	N	N	N

R:発根; S:シュート; N:変化なし; (形成数/供試個体数)

表-6 植物ホルモン及びシヨ糖濃度別カルス形成状況(根)

		シヨ糖 (g/l)					
		25			50		
		2,4-D (mg/l)					
		0	0.2	2.0	0	0.2	2.0
ABA (mg/l)	0	N	R(1/12)	N	N	N	N
	5	N	N	N	N	N	N
	10	N	N	N	N	N	N

R:発根; S:シュート; N:変化なし; (形成数/供試個体数)

表-7 植物ホルモン別・濃度別カルス形成状況(茎)

		BAP (mg/l)		Kin (mg/l)		2iP (mg/l)		Zeatin (mg/l)	
		0.2	2	0.2	2	0.2	2	0.2	2
2,4-D (mg/l)	2	G(10/12)	G(10/12)	W(2/12)	N	N	W(1/12)	N	N
	N	G(12/12)	G(12/12)	W(4/12)	N	N	W(1/12)	N	N

G:緑色カルス; W:白色カルス; S:シュート; N:変化なし; (形成数/試供個体数)

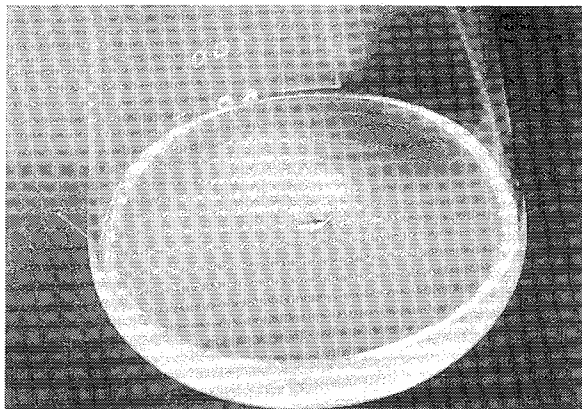


写真-7 シオデの茎から誘導された白色カルス

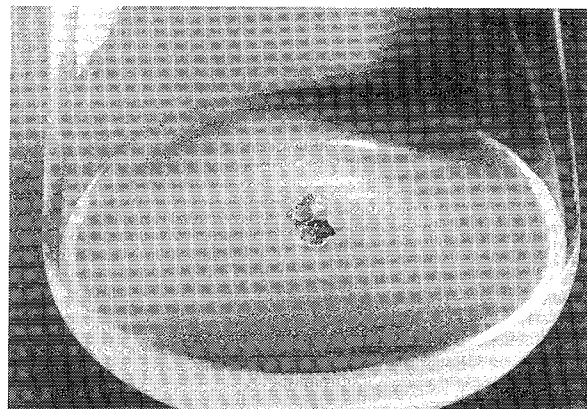


写真-8 シオデの茎から誘導された緑色カルス

であった。BAPを添加した試験区では、エンブリオジェニックカルスを誘導すると考えられる緑色カルス(写真-8)が高頻度で形成された。

(2) カルスから不定胚の再生

表-8に結果を示した。ホルモン無添加の試験区では、再生してきた個体は、まったくなかった。BAP添加の試験区では、1カルスあたり平均4本のシュートが得られた。

BAP添加区からのみシュートが発生してきたので不定胚経由ではないと考えられた。また、通常の茎頂培養を行っても一つの茎頂から一サイクル平均3本のシュートが得られることから効率の良い再生状況ではなかった。以上のことから、今回得られたカルスはエンブリオジェニックカルスでない可能性があり、不定胚を得るためにはカルスの誘導方法を変えるか、カルスの継代について検討する必要があると思われた。

表-8 カルスからの植物体再生状況

	BAP (mg/l)	
	0	2
茎	R(1/12) N(11/12)	S(12/12)

S:シュート; R:発根; N:変化なし
(形成数/試供個数体)

IV 引用文献

- 1) 宍戸・青野ほか：組織培養による優良個体の増殖技術の開発、福島県林業試験場研究報告. 27, 59~73, (1995)
- 2) ANDERSON, W. C. : Propagation of rhododendrons by tissue culture : Part 1 .Development of a culture medium for multiplication of shoots. Intl. plant Prop. Soc. 25 : 129~135, 1975
- 3) MURASHIGH, T., and SKOOG, F. : A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physion. Plant. 15 : 473~497, 1962
- 4) 河合：組織培養によるゼンマイの種苗育成, 奈良県林業試験場林業資料. 6, 30~35, (1991)