
福島農総セ研報8:23-28(2016)

アスパラガス培養苗の早期育成技術

松野 香子

Rapid Propagation System of Asparagus(*Asparagus officinalis* L.)
Seedlings Using *in-vitro* Culture

Takako MATSUNO

Abstract

Subculture intervals encouraging storage root formation , division of *in-vitro* plants with storage roots and the number of storage root in acclimated culture reduced the time required to produce asparagus seedlings by 6 months. Storage roots appeared one month after subculture at monthly intervals and storage root formation rates were improved. Survival rates after 15 month *in-vitro* culture were 93 to 98 % subcultured at 1 or 2 month intervals. Survival number and propagation efficiency 6 months after *in-vitro* culture showed no significant differences between at the *in-vitro* plant division stage appearing and elongating storage roots. Plants forming storage roots propagated almost 6 times by plant division. Plants even with 1 storage root grew normally and survived above 90 % after 6 months.

Key Word: asparagus, storage root, plant division , acclimated culture

キーワード:アスパラガス、貯蔵根、植物の分割、培養物の順化

受理日 平成27年12月18日

1 緒言

福島県ではアスパラガス産地の維持および拡大を図るため、1990年からアスパラガス新品種の育成に取り組み、2004年に若茎品質が優れ収量性が高い全雄性品種の「ハルキタル」⁵⁾と、草勢が強く収穫若茎が太い雌雄混合品種の「春まちグリーン」を、2008年に収量性が高く生育の揃いが良い紫アスパラガスの「はるむらさきエフ」³⁾を、2014年に収量性が高く若茎品質が優れる雌雄混合品種の「ふくきたる」⁴⁾を育成し品種登録を出願した。これらの品種は全て一代雑種であり、新品種の普及には種子生産をするための両親のクローンを組織培養により大量に増殖する必要があった。

本県ではアスパラガスの増殖に、側芽からのシュートを増殖させて植物体を再生する側芽培養法^{1)、2)、7)}を用いているが、シュートのカルス基部より発生する白色根の発根が不安定であり、育成した幼植物も基部に形成した芽から直接発生する貯蔵根を有していないため、順化中に枯死するなどの問題があった。鈴木は培地にアンシミドールを添加し、葉未展開シュートの頂部を用いることにより、1/2MS培地に移植したシュートの白色根発根率を80%以上に向上させ、併せて1/2MS培地で白色根発根個体の継代を繰り返し、貯蔵根を形成した幼植物を順化することにより、生存率を10%程度から60~70%以上に向上させた⁶⁾。しかし、この手法での原種苗生産には18ヶ月を要し、培養期間の短縮が求められていた。

そこで、アスパラガスの原種苗生産に要する期間を短縮するため、側芽培養によって得られた白色根発根個体の継代培養の間隔、貯蔵根形成個体の分割による増殖およびその分割時期、順化に適した培養苗の貯蔵根の本数について試験した。

2 試験方法

(1) 発根個体の継代間隔が貯蔵根形成に及ぼす影響

A 材料

温室に保存されている「ハルキタル」の交配親である雌株'9307'(2n=20)の長さ10cmの若茎を2012年4月に採取し、中性洗剤を加えた水道水で洗浄した後、頂部約5cmを切り取り、70%エタノールに30秒間、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素1%、Tween20数滴添加)に15分間浸漬して表面殺菌を行い、滅菌水で3回洗浄した。洗浄後、実体顕微鏡下で小側枝を約1~2mmの大ききで無菌的に切り出して、0.5 μ M NAA、0.4 μ M BA、2.0 μ M アンシミドールを添加したMS培地(3.0%シヨ

糖、1.0%寒天、pH6.0)を10ml注入した試験管に置床し、温度25℃、照度2,000Lux、18時間照明の条件下で培養した。

培養1ヶ月後、伸長してきたシュートを節ごとに分割し、同組成の培地を70ml注入したプラントボックス(縦60mm、横60mm、高さ100mm、通気のため、ふたに直径約10mmの穴を空け、フィルタ孔径0.45 μ mのテフロン製無菌通気膜を貼り付けた、以下全ての試験が同じことを示す)を用いて1ヶ月ごとに節ごとの分割を繰り返し、培養個体を増やした。

2012年8月に培養個体の葉未展開シュートの頂部約2mmを、10.0 μ M IBA、0.5 μ M カイネチン、5.0 μ M アンシミドールを添加したMS培地(3.0%シヨ糖、0.8%ゲランガム、pH6.0)を70ml注入したプラントボックスに移植し、照度1,000Luxで3週間培養した後、発生したシュートをろ紙を敷いた9cmシャーレに置床し、2日間乾燥処理を行った。

2012年9月に白色根の発根促進を目的に、乾燥後のシュートを1/2MS培地(3.0%シヨ糖、0.2%ゲランガム、pH6.0)を70ml注入したプラントボックスに移植後、照度2,000Luxで培養し、シュート基部より白色根が発生した葉未展開個体を供試材料とした。

B 方法

2012年9月に白色根が発生した葉未展開個体を、1/2MS培地(3.0%シヨ糖、0.2%ゲランガム、pH6.0)を70ml注入したプラントボックスに25本ずつ植え、温度25℃、照度2,000Lux、18時間照明条件下で培養を開始した。この後1ヶ月毎または2ヶ月毎に基部のカルスおよび白色根をシュート基部で全て切除し、シュートの基部側約2cmを同組成の培地へ継代する操作を繰り返した。調査は1ヶ月毎に貯蔵根の形成個体数を15ヶ月間数えた。供試個体数は1ヶ月毎継代した区が50個体、2ヶ月毎継代した区が75個体であった。

(2) 貯蔵根形成個体の分割による増殖と分割時期による増殖倍率の違い

A 材料

試験(1)で貯蔵根を形成した'9307'を材料とした。

B 方法

貯蔵根形成個体の増殖を目的に、貯蔵根1本を形成した個体を、1/2MS培地(3.0%シヨ糖、0.2%ゲランガム、pH6.0)を30ml注入した100ml植物培養用フラスコに1個体ずつ植え、温度25℃、照度2,000Lux、18時間照明条件下で培養し、2本目の貯蔵根が発生した個体について

それぞれ鱗芽に貯蔵根を1本つけた状態で分割した(図1)。分割はコンタミネーションを防止し、移植作業を容易にするためシュートおよび貯蔵根を基部から約2cm程度残して切除し、同組成の培地へ1個体ずつ移植した。

分割の時期は2本目の貯蔵根が発生した時期(長さ2cm未満、以下貯蔵根発生期とする、図2)と2本目の貯蔵根が伸長した時期(長さ2cm以上、以下貯蔵根伸長期とする、図3)とした。調査は2014年4月より開始し、調査開始1ヶ月から6ヶ月後までの生存個体数、増殖倍率を1ヶ月毎に調査した。供試個体数は1区5個体3反復とした。



図1 貯蔵根を1本つけて分割した個体



図2 貯蔵根発生期の個体 図3 貯蔵根伸長期の個体

(3) 順化開始時の貯蔵根の本数と順化後のシュート数、生存率の違い

A 材料

試験(1)で貯蔵根を形成した‘9307’で貯蔵根が1本発生した個体と貯蔵根が2本発生した個体を材料とした。

B 方法

1/2MS培地30mlを注入した植物培養用100mlフラスコで培養中に、シュートや貯蔵根が十分伸長した個体を貯蔵根の本数毎にそれぞれ順化に供した。順化は農業総合センター内のガラス温室で行い、バーミキュライト細粒、バーミキュライト粗粒、パーライトを等量混合した

用土を詰めた2.5号ポリポットへ移植した。移植後、不織布を1日かけた後外した。活着後、10日に1回家庭園芸用複合肥料(ハイポネックス液6-10-5 2000倍)を1株当たり約80ml与えた。温室内の栽培条件は自然光で温度25℃±5℃とした。調査は2014年4月より開始し、1ヶ月後、2ヶ月後と6ヶ月後に順化開始時の貯蔵根本数ごとのシュート数と生存率を調査した。供試個体数は1区15個体3反復とした。

3 試験結果

(1) 発根個体の継代間隔が貯蔵根形成に及ぼす影響

貯蔵根の形成が確認されたのは、継代間隔1ヶ月区で調査開始1ヶ月後からであったが、継代間隔2ヶ月区では調査開始6ヶ月後からであった(図4)。貯蔵根が形成され始めてからは、継代間隔1ヶ月区、継代間隔2ヶ月区とも貯蔵根が継続して形成され、貯蔵根形成個体率は経過月数が長くなるにつれ、高くなった。試験開始15ヶ月後の貯蔵根の形成率は継代間隔1ヶ月区が58%と継代間隔2ヶ月区の39%よりも高く、生存率は継代間隔1ヶ月区、2ヶ月区とも93~98%と高い水準にあった(データ省略)。

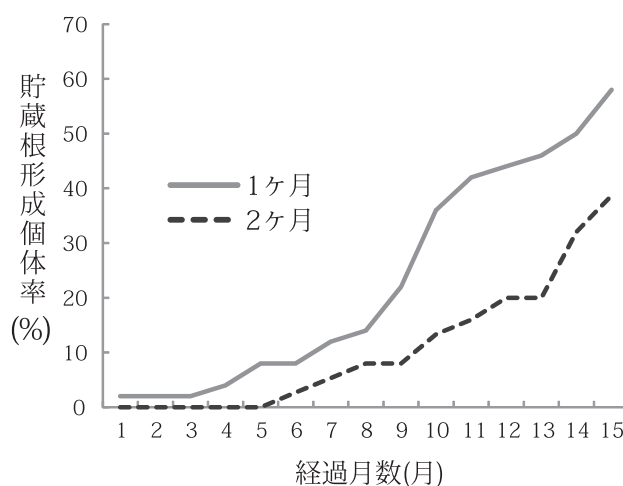


図4 継代間隔の違いによる貯蔵根形成個体率の推移

(2) 貯蔵根形成個体の分割による増殖と分割時期による増殖倍率の違い

貯蔵根形成個体における分割時期については、貯蔵根発生期と貯蔵根伸長期とで比較を行ったが、6ヶ月後の生存個体数と増殖倍率に有意差はなかった(表1)。6ヶ月後の増殖倍率は貯蔵根発生期の分割で5.7、貯蔵根伸

長期の分割で6.3であり、貯蔵根形成個体を分割することにより6ヶ月で概ね6倍の増殖が可能であり、生存率は貯蔵根発生期と貯蔵根伸長期はほぼ同等であった。

(3) 順化開始時の貯蔵根の本数による順化後のシュート数、生存率の違い

貯蔵根が1本発生した個体と貯蔵根が2本発生した個体を比較すると、6ヶ月後の順化後のシュート数と生存率はどちらの個体も差がなかった。貯蔵根が1本発生した個体でも6ヶ月後の生存率は88%以上であった(表2、図5)。

4 考 察

アスパラガスの貯蔵根を形成する前の白色根の発根個体は順化時に根が脱落し、枯死するが多い。原田²⁾は移植後確実に活着して発育を続け完全な植物体となるためには、茎と根の通導組織がつながり、さらに地下茎と鱗芽群を形成することが前提条件であると述べている。また、鈴木⁶⁾は白色根の発根個体をシュート基部を残し、シュート上部と根を切除して継代することにより、貯蔵根が発生しやすくなることを報告している。貯蔵根は鱗芽から直接発生した根であり、順化時も脱落することなく、順化後の活着も良い。'9307'の白色根の発根個体の継代間隔が貯蔵根形成に及ぼす影響を調査した結果、継代間隔1ヶ月においては試験開始1ヶ月後より、継代間隔2ヶ月においては試験開始6ヶ月後から貯蔵根が形成された。鈴木⁶⁾の報告において'9307'では継代間隔1ヶ月で試験開始2ヶ月後から、継代間隔2ヶ月

では試験開始3ヶ月後から鱗芽および貯蔵根が形成された。同報告では今回の試験結果と異なり、8ヶ月後の貯蔵根形成率が78~96%と高く、試験に用いたシュートの状態によるものかどうか判然としなかったものの、継代間隔は2ヶ月より1ヶ月の方が貯蔵根形成率が早期に高まるのが本研究でも確認された。鈴木は、継代培養時の幼植物のカルスおよび根、シュートの切除がストレスとなって遺伝子発現が変化し、本来シュートのみ伸長する節部の生長点が鱗芽および貯蔵根に変化したのではないかと述べており、貯蔵根形成率を高めるためには継代間隔を1ヶ月とし、継代によるストレスをより多く与えた方が有利であると考えられた。

貯蔵根形成個体の分割時期については、貯蔵根発生期と貯蔵根伸長期とは有意な差はみられなかった。貯蔵根伸長期の分割が貯蔵根発生期の分割より増殖倍率がやや高かったのは、貯蔵根伸長期の分割では3本目の貯蔵根が発生して3分割が可能な個体が出現したこと、貯蔵根発生期では分割の際に貯蔵根が短く鱗芽の生育も十分でなかったため切り落とした個体があったことによるものと考えられた。このため貯蔵根が2本であっても鱗芽の生育が十分でないものは、十分生育してから分割を行った方が良いと考えられた。また、貯蔵根形成個体の分割の際は、コンタミネーションの危険性があることから、ろ紙を敷いたシャーレ上で作業を行い、シュートは基部から2cm程度残して切除し、貯蔵根が伸長している場合は2cm程度に切除することが望ましい。

順化開始時の貯蔵根の本数による順化後の生育への影響については、貯蔵根が1本発生した個体と2本発生した個体で有意な差はみられなかった。貯蔵根が1本発生した個体で順化中にシュート数が少ない、または伸び

表1 貯蔵根形成個体の分割時期の違いによる増殖倍率と生存個体数の推移

分割時期	培養開始 時個体数	2ヶ月後		4ヶ月後		6ヶ月後		
		生存個体数	増殖倍率	生存個体数	増殖倍率	生存個体数	増殖倍率	生存率
貯蔵根発生期	5	8.3	1.7	17.0	3.4	28.3	5.7	98.2
貯蔵根伸長期	5	9.0	1.8	19.3	3.9	31.3	6.3	100.0

t検定により生存個体数、増殖倍率ともにいずれの調査時も5%水準で区間に有意差は認められなかった

貯蔵根発生期：2本目の貯蔵根の長さが2cm未満で分割、貯蔵根伸長期：2本目の貯蔵根の長さが2cm以上で分割

表2 順化開始時の貯蔵根形成本数の違いによるシュート数と生存率の推移

貯蔵根本数	1ヶ月後		2ヶ月後		6ヶ月後	
	シュート数 (本)	生存率 (%)	シュート数 (本)	生存率 (%)	シュート数 (本)	生存率 (%)
1本	1.2	93.3	1.2	91.1	1.9	88.9
2本	1.4	100.0	1.5	100.0	2.0	97.8

t検定によりシュート数、生存率ともにいずれの調査時も5%水準で区間に有意差は認められなかった

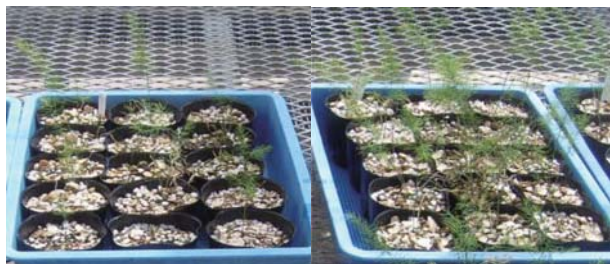


図5 貯蔵根形成本数の異なる個体の
順化2ヶ月後の様子

(左)貯蔵根1本形成個体、(右)貯蔵根2本形成個体

が悪い個体が枯死する傾向がみられるが、生存率は88%以上であり、貯蔵根が1本でも分割後シュートと貯蔵根が十分に生育するまで培養した後に順化すれば、生存率が向上できると考えられる。1本目の貯蔵根が発生してから2本目の貯蔵根が発生するまでには約3週間かかるため、貯蔵根が1本の段階で順化を行うことにより、より早く原種苗を生産することが可能である。

これらの結果から、'9307'は白色根の発根個体を1ヶ月毎に継代することによって、側芽培養開始時から概ね6ヶ月で貯蔵根形成個体を作出することができ、貯蔵根を形成した個体を2本目の貯蔵根が形成され伸長した時期に、鱗芽に貯蔵根を1本つけた状態で分割することにより、6ヶ月で6倍に増殖することが可能である。さらに、貯蔵根が1本形成された個体は順化可能となることから、培養開始時より概ね12ヶ月で原種苗を得ることができた。アスパラガスの組織培養の条件と原種苗生産の流れを表3、図6に示した。

なお、'9307'以外の系統も本方法で、増殖の効率化を図ることができると考えられる。現在「ふくきたる」の親株を同方法で増殖中である。

5 摘 要

アスパラガスの原種苗生産に要する期間を短縮するため、'9307'の組織培養における貯蔵根形成に適した継代間隔、貯蔵根発生個体の分割、さらに順化に適する培養苗の貯蔵根の本数について試験した。

- (1) 発根個体における貯蔵根は継代間隔1ヶ月において、試験開始1ヶ月後には発生し、貯蔵根形成率も既報と同様早期に高まった。また、15ヶ月後の生存率は継代間隔1ヶ月、2ヶ月とも93～98%と高かった。
- (2) 2本目の貯蔵根が発生した時期(貯蔵根発生期、貯蔵根の長さ2cm未満)、2本目の貯蔵根が伸長した時

期(貯蔵根伸長期、貯蔵根の長さ2cm以上)とで分割時期の違いによる6ヶ月後の生存個体数と増殖倍率には差がみられず、貯蔵根形成個体は分割により6ヶ月で概ね6倍に増殖が可能であった。

- (3) 貯蔵根1本で順化を開始しても6ヶ月後の生存率は約90%であり、生育良好な順化苗が得られた。
- (4) 上記の培養・増殖・順化手法を採用することで、原種苗の生産期間を従来の方法より6ヶ月ほど短縮できた。

謝 辞

本研究の遂行にあたり、試験材料を福島県農業総合センター作物園芸部品種開発科の大竹祐一氏に提供いただいた。また、試験材料の増殖に元福島県農業総合センター作物園芸部品種開発科の松崎正三氏にご尽力いただいた。ここに記して厚くお礼申し上げます。

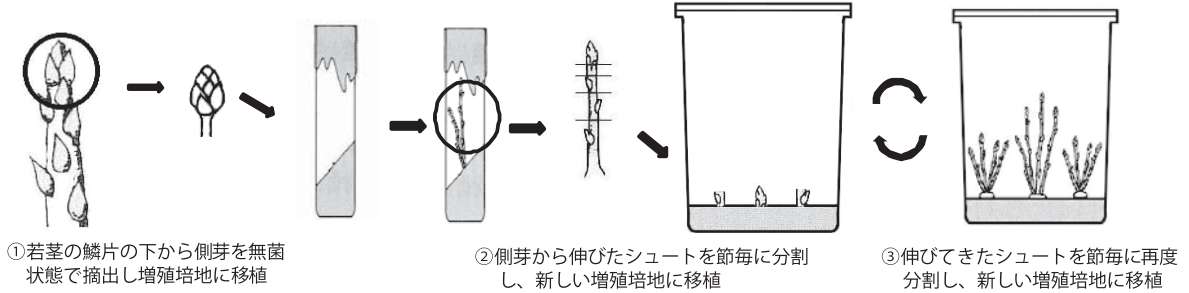
引用文献

- 1) 遠藤柳子・庄子孝一. 1992. アスパラガスの組織培養における発根および順化方法の改善. 宮城農セ報58: 25-36.
- 2) 原田隆. 1989. アスパラガス(*Asparagus officinalis* L.)組織からの器官形成とその利用に関する研究. 北大農邦文紀要16(4):301-346.
- 3) 仁井智己・園田高広・金山貴明・林有子・佐久間秀明. 2011. アスパラガス新品種「はるむらさきエフ」の育成. 福島農総セ研報3:1-13.
- 4) 大竹祐一・園田高広・金山貴明・林有子・佐久間秀明・仁井智己. 2015. アスパラガス新品種「ふくきたる」の育成. 福島農総セ研報7:1-9.
- 5) 園田高広・金山貴明・鈴木誉子. 2005. アスパラガス新品種「ハルキタル」および「春まちグリーン」の育成. 福島農試研報37:11-18.
- 6) 鈴木芳成. 2011. 側芽培養によるアスパラガス新品種原種苗生産. 福島農総セ研報3:15-28.
- 7) 八鍬利朗・原田隆・飛世昌江. 1984. アスパラガスの形態形成に関する研究:第9報 培養茎の茎頂ならびに節部切片の培養における器官形成. 北大農邦文紀要14(2):174-186.

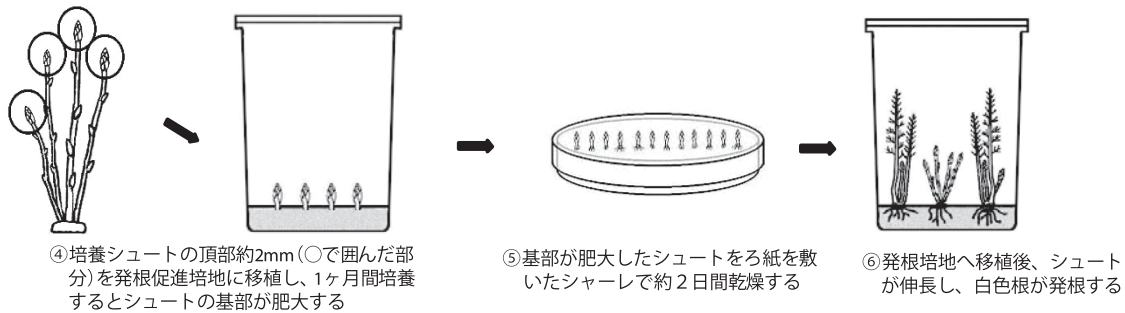
表3 アスパラガス組織培養の条件

培地名	培 地 条 件					培 養 条 件		
	基本培地	ホルモンの種類 と濃度(μM)	シヨ糖濃度 (%)	支持体の種類 と濃度(%)	pH	温度 (°C)	照明 (Lux)	日長 (hr)
増 殖	M S	アンシミドール	2.0	3.0	寒天	6.0	2,000	18
		NAA	0.5					
		BA	0.4					
発根促進	M S	アンシミドール	5.0	3.0	ゲランガム	6.0	1,000	18
		IBA	10.0					
		カイネチン	0.5					
発 根	1/2MS		3.0	0.2	ゲランガム	6.0	2,000	18

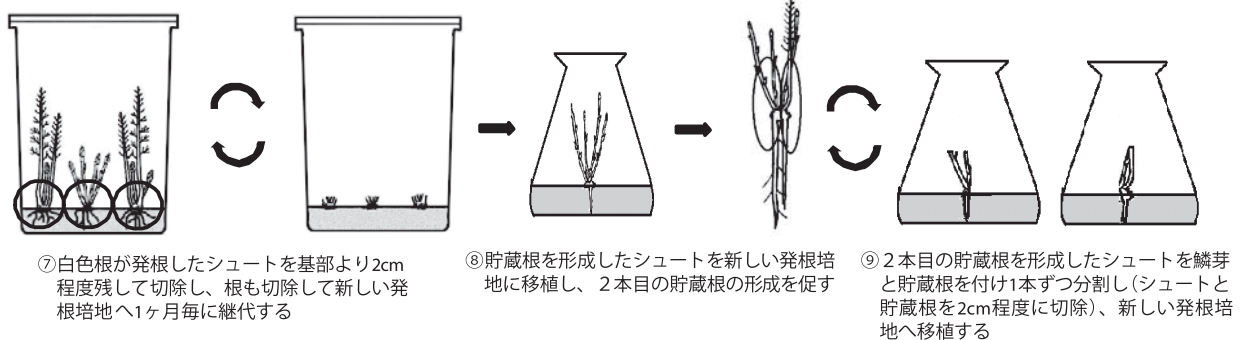
I 培養シュートの増殖



II 発根促進および培養シュートからの発根



III 貯蔵根の形成と分割



IV 貯蔵根形成個体の順化

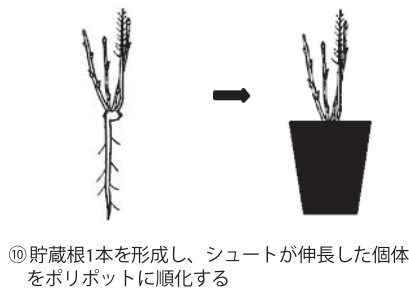


図6 アスパラガス原種苗生産の流れ