

ナガイモのメリクローンの増殖

庭田 英子・福士 協二*・松中謙次郎

(青森県畑作園芸試験場・*青森県庁)

Clonal Propagation of Chinese Yam from Shoot Meristem Tips

Eiko NIWATA, Kyoji FUKUSHI* and Kenjiro MATSUNAKA

(Aomori Field Crops and Horticultural Experiment Station・*Aomori Prefectural Government Office)

1 は し が き

ナガイモの茎頂培養による植物体の育成については、奥山ら²⁾、石川¹⁾らが既に成功しているが、経時的にみると、いずれも茎頂から一たんカルス形成がみられた後根が分化し、更になかなか遅れて茎葉が分化している。筆者らも同様の試験を行ったが、茎葉分化に長期間を要し、しかも植物体の得られる確率が低いことを認めた。そこで、NAA濃度をより低レベルに抑えBAを添加することによって茎頂由来のカルスからまず茎葉を誘導し、これを分割することにより培養体の増殖を試みたので報告する。

2 材料及び方法

(1) 培地の調製

しょ糖濃度3%のLinsmaier-Skoog培地を基本培地とし、オーキシンとして α -Naphthyl acetic acid (NAA), サイトカイニンとして6-Bezyl adenine (BA)を用い、それぞれを所定濃度になるように加えた。また、寒天培地では粉末寒天を7g/l添加して、液体培地ではろ紙を支持台とした。培地の殺菌はオートクレーブで、120~125℃で8分行った。

(2) 材料の調整及び試験方法

試験Ⅰ ナガイモ茎頂からのカルス形成及び器官分化
ナガイモのつるの先端数cmを99.5%エタノールに瞬時浸漬後、0.1%ツイーン20を加えたアンチホルミン20倍希釈液で5~10分間表面殺菌した。その後実体顕微鏡下で生長点部より0.3~0.5mmの厚さに茎頂(葉原基1~数枚含む)を取り出し、NAA及びBAが所定濃度になるように調整した培地(表1)に置床し、カルス形成率を調査した。また、NAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M及びNAA 10^{-5} M + BA 10^{-5} Mを添加した寒天培地と液体培地に茎頂を置床し、カルス形成及び器官分化を経時的に調査した。

試験Ⅱ カルスからの器官分化に及ぼすNAA, BAの影響

試験ⅠのNAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M添加培地で得られたカルスを芽1個を含む米粒大の切片とし、NAA及びBAを所定濃度になるように調製した培地(表2)に置床し、カルス形成度及び器官分化について調査した。

試験Ⅲ 茎葉からの根分化に及ぼすNAAの影響

試験Ⅱで得られた茎葉を分割して、NAA 10^{-6} M, 10^{-7} M及び無添加培地に置床し、根分化について調査した。

(3) その他の培養条件

25 ± 1℃, 植物育成用ランプ800~1,500 lxで、試験Ⅰは12時間照明、その他の試験は18時間照明とした。

3 結果及び考察

試験Ⅰ ナガイモ茎頂からのカルス形成及び器官分化

茎頂からのカルス形成はNAA 10^{-6} M, 10^{-5} MとBA 10^{-5} M, 10^{-4} Mの組合せで認められ、形成率はNAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M区で最も高く、NAA 10^{-5} M + BA 10^{-5} M区がこれに次いだ。そこで、NAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M及びNAA 10^{-5} M + BA 10^{-5} Mに調製した寒天培地と液体培地に

表1 ナガイモ茎頂のカルス形成に及ぼすNAA, BAの影響

NAA濃度 ($\times 10^{-6}$ M)	BA濃度 ($\times 10^{-6}$ M)	供試数 (本)	カルス形成率 (%)
0	0	19	0
1	10	63	76.2
1	100	29	41.4
10	10	35	65.7
10	100	19	47.4
100	10	9	0
100	100	19	0

注. 調査: 置床後76~99日目

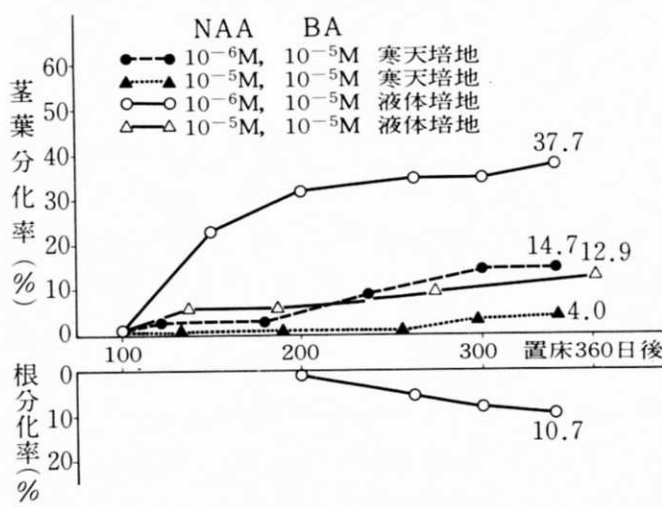


図1 ナガイモ茎頂の器官分化の時間的推移

おけるカルス形成と器官分化を経時的に観察したところ、カルス形成率は概して寒天培地に比べて液体培地で高い傾向がみられた。茎葉分化率は $NAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M$ 添加液体培地で最も高く、置床 100 日後から分化がみられ、330 日後には 33.7% に達した。また、根の分化は $NAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M$ 区でのみ置床後 200 日後からみられ、330 日後で 10.7% の植物体を得られた。

試験Ⅱ カルスからの器官分化に及ぼす NAA , BA の影

表 2 カルスの器官分化に及ぼす NAA , BA の影響

NAA 濃度 ($\times 10^{-6} M$)	BA 濃度 ($\times 10^{-6} M$)	供試数 (本)	カルス形成度 ^{a)}	茎葉分化数 (本)	茎葉総本数 (本)	根分化数 (本)	備 考
0	0	19	6	15	18	7	
2	0	19	44	11	14	8	※ ^{b)}
2	2	19	32	16	52	1	
2	20	20	21	16	25	0	
20	0	20	42	9	14	6	※
20	2	20	22	15	24	2	※
20	20	20	26	13	19	0	

注. 調査: 置床 61 日目

a) カルス形成度 = $\Sigma(n)$ $n = 0$: カルスの形成がみられない。
 $n = 1$: カルスの径が 7.5 mm 以下
 $n = 2$: " 7.5 ~ 15 mm
 $n = 3$: " 15 mm 以上

b) ※: 根の異常肥大, かつ変あるいはちぢれ, 茎葉の脱分化がみられる。

試験Ⅲ 茎葉からの根分化に及ぼす NAA の影響

試験Ⅱで NAA による茎頂の脱分化及び根の異常伸長がみられたので, 更に低濃度での NAA の影響について検討

したところ, $10^{-7} M$ でも同様の現象が認められたため, 正常な植物体を得るには基本培地が適していると思われた。

表 3 茎葉からの根分化に及ぼす NAA , BA の影響

NAA 濃度 ($\times 10^{-6} M$)	供試数 (本)	カルス形成度 ^{a)}	茎葉分化数 (本)	根分化数 (本)	根分化個体 当りの根数 (本)	※ ^{b)} (本)
0.	19	0	18	14	1.8	0
0.1	19	15	18	15	2.9	2
1	19	18	11	10	3.5	7

注. 調査: 置床 67 日目

a), b) は表 2 に準ずる。

4 ま と め

以上の結果より, メリクローンの増殖法を説明すると次のとおりである。①カルス誘導: 茎頂を $NAA 10^{-6} M + BA 10^{-5} M$ LS 液体培地に置床し, カルスを誘導する。②茎葉分化: カルスを細片し, $NAA 2 \times 10^{-6} M + BA 2 \times 10^{-6} M$ LS 寒天培地に移植し, 茎葉分化を促す。分化した茎葉の一部はカルスを付随して再びこの培地を移し, この作業を繰り返す。③根分化: 分化した茎葉の一部は生長調節物質を含まない LS 寒天培地に移植して, 茎葉の伸長と根分化を図ってから順化育成する。

響

培養体の増殖率を高めるため, 茎頂由来のカルスからの器官分化に及ぼす NAA , BA の添加量について検討したところ, 茎葉分化率は $NAA 2 \times 10^{-6} M + BA 2 \times 10^{-6} M$ 区で高く, 茎葉数は 61 日で約 3 倍となった。根分化率は基本培地及び NAA 単独区で高く, BA 添加で抑制される傾向がみられた。しかし, NAA 単独区では, 茎葉の脱分化や根の異常肥大, かつ変あるいはちぢれが観察された。

なお, 本法では初代培養においてカルスの生長が緩慢であるため, 更に改良を加える必要があるとともに, 培養体の変異性についても検討を要する。

引 用 文 献

- 1) 石川悦郎・沢 恩. ナガイモの茎頂培養について. 日作東北支部報 19, 125-126 (1976).
- 2) 奥山 功・八鍬利郎・原田 隆. 園芸植物のウイルスフリー株育成に関する研究 (第 5 報). ナガイモにおける茎頂培養ならびに種子の形成について. 北海道園芸談話会報 6, 30-31 (1973).