

シオデ大量増殖のための組織培養技術の確立

— 好適培養部位及びNAA, BA濃度 —

村山 徹・井澤 弘一*

(山形県立農業試験場・*山形県立園芸試験場)

Efficient Propagation Methods of *Similax nipponica* by Tissue Culture

— Suitable parts of explants and suitable concentration of NAA and BA —

Tohru MURAYAMA and Kouichi ISAWA*

(Yamagata Prefectural Agricultural Experiment Station .)
(*Yamagata Prefectural Horticultural Experiment Station)

1 はじめに

シオデ *Similax nipponica* は、“山菜の王様”と呼ばれ、アスパラガスに似た良食味の山菜として知られている。しかし、その根株の増殖は困難で、種子繁殖では収穫まで長期間を要するうえ、個体間差が大きいという問題がある。そこで、1)生産性の高い株のクローン増殖、2)収穫までの年限短縮を目的として、組織培養による増殖を試みたので報告する。

2 試験方法

シオデは、本試験場最北支場から分譲された系統を室内で育成し、材料とした。培養部位としては、葉片(成葉及び幼葉)、茎切片、腋芽(葉腋部)並びに茎頂(0.2~0.5mm)を用いた。各部位は十分水洗後、70%エタノールに30秒、アンチホルミン(有効塩素1%)に7分間浸漬し、滅菌水で3回洗浄した後、培地に置床した。

培地は、2% Sucroseを含むMurashige & Skoog (MS)培地を基本とし、ナフタレン酢酸(NAA)、ベンジルアデニン(BA)を表1のように加えたものを用いた。寒天0.75%を加えて、培養試験管(40mm X 130mm)、

培養フラスコ(100ml)に約20mlずつ分注した。培養は16時間照明(約3000lux)、20℃で行い、1か月ごとに継代した。

3 試験結果及び考察

腋芽培養では、茎葉分化は、BA0.1mg/l、NAA0.1mg/l+BA0.1mg/l添加培地で効率が良く、伸長したものをトリミングすることにより、増殖が可能であった。BA1.0mg/l添加区でも、数の上では同様な結果が得られたが、茎葉は伸長せず、一部奇形化するものも見られた。また、カルス化し、そこに不定芽が形成されることが多かった。NAA単独添加区では発根したが、その反応は遅く、少なくとも2か月を要した。分化根数は、NAA1.0mg/l添加区で多かったが、生長は0.1mg/l区での方が良かった。また、0.1mg/l区では、発根と同時に茎数が伸長するものも観察された(表1)。NAA+BA区では、カルス化するものが多くなり、継代しても不定芽は分化したが、NAAを除くことにより分化が促進された(表2)。以上の結果から、腋芽培養においては、茎葉伸長、増殖(BA0.1mg/l)→発根(NAA0.1mg/l)が適当と考えられる。

表1 シオデの腋芽培養(3か月後)

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	移植数 (A)	カルス形成		茎葉分化			根分化		
			割合 ¹⁾	増殖 ²⁾	割合	数(B)	B/A	割合	数(C)	C/A
0	0	11	0/8	-	6/8	6	0.55	0/8	0	0.00
"	0.1	8	0/16	-	16/16	24	3.00	0/16	0	0.00
"	1.0	8	4/9	+	8/9	19	2.38	0/9	0	0.00
0.1	0	8	0/8	-	4/8	4	0.50	5/9	18	2.25
"	0.1	10	5/20	+	15/20	25	2.50	0/20	0	0.00
"	1.0	11	12/12	+	9/12	21	1.91	0/12	0	0.00
1.0	0	10	4/10	±	0/10	0	0.00	9/10	36	3.60
"	0.1	8	7/8	±	1/8	1	0.13	0/8	0	0.00
"	1.0	8	7/8	±	0/8	0	0.00	0/8	0	0.00

注. 1):移植数と一致しない場合があるのは、継代時にトリミングしたためである。

2):+;中, ±;小, -;無

表 2 シオデ腋芽由来カルスからの不定芽分化 (2 か月後)

初代培地 (mg/l)		移植培地 (mg/l)	割合	不定芽数
NAA	BA	BA		
0.1	0.1	0.1	3/3	19
"	1.0	1.0	9/10	56
1.0	0.1	0.1	4/6	5
"	1.0	1.0	6/7	7

茎頂培養の場合には、更に生長が遅く、4 か月後でも茎葉が分化したものはわずかであった (表 3)。シオデでは、現在のところウイルス等の問題はなく、増殖のためには茎頂は不適と考えられる。

葉片、茎切片の培養においても、反応は非常に鈍く、カルス形成に 2 か月程度を要した。また、幼葉を除いては、その割合は低かった (表 4)。カルスを継代又は移植すると、やはり不定芽が分化したが、効率は良くなかった。反応の遅さに加え、クローン増殖という観点では、カルス→不定芽系は変異を伴うため好ましくないで、材料としては劣ると考えられる。

以上の結果より、供試部位の中では、腋芽が増殖に適し

表 3 シオデの茎頂培養 (4 か月後)

NAA (mg/l)	BA (mg/l)	移植数	生長 ¹⁾	茎葉 ²⁾
0	0	3	0 (-)	0 (0)
"	0.1	4	3 (+)	1 (10)
"	1.0	4	4 (++)	0 (0)
0.1	0	3	3 (±)	0 (0)
"	0.1	3	3 (++)	1 (2)
"	1.0	3	2 (++)	0 (0)
1.0	0	4	3 (±)	0 (0)
"	0.1	3	3 (++)	0 (0)
"	1.0	3	3 (++)	0 (0)

注. 1): 生長した茎頂数
(±; ~1 mm, +; 1~2 mm, ++; 2 mm~)
2): +; 中, ±; 小, -; 無

ていると考えられた。腋芽培養によって得られたシオデ茎葉の発根率は 50% 程度で、発根した個体は、パーミキュライトとパーライトを混合したもので馴化した。この過程で、茎葉の伸長が停止するものが多く、枯死するものもあった。1~2 か月で半分以上の個体では、腋芽または地中から出た新しい芽が伸長し始めたが、馴化終了後も生長が止まりやすく、今後の問題である。

表 4 シオデの茎切片、葉片由来カルスからの不定芽分化 (2 か月後)

部位	初代培地 (mg/l)		カルス形成割合	移植培地 (mg/l)		割合	不定芽数
	NAA	BA		NAA	BA		
茎		1.0	2/26		1.0	2/2	43
	0.1	0.1	4/28		0.1	1/4	5
	"	1.0	4/28		1.0	0/4	0
幼葉	0.1	0.1	3/4		0.1	1/4	1
	"	1.0	4/4		1.0	2/4	5
成葉	1.0	0.1	4/24		0.1	1/1	3
	"			1.0	"	2/4	2
	"	1.0	4/24	"	1.0	2/2	10
				"	"	2/2	3

以上のように、一応の系はできたが、各過程に問題が残っており、効率が低下している。まず第一に挙げられるのが、茎葉の増殖速度の遅さである。いずれの培養の場合でも、組織片からすぐに褐変物質が放出されることもその原因の 1 つであると考えられる。これを防ぐためには、より詳細な培地条件の検討が必要とされる。また、図 1 のように、シオデの組織培養による増殖技術には、5 ルートが考えられるので、目的に応じて選択しなければならない。今後、栽培面と併せて考慮すべき問題である。一方、発根、馴化の過程の効率の悪さもあるが、これは、その段階のみの問題ではなく、その前段の初代培養に大きく影響されると考えられる。したがって、当面は、初代培養のより一層の検討が必要である。

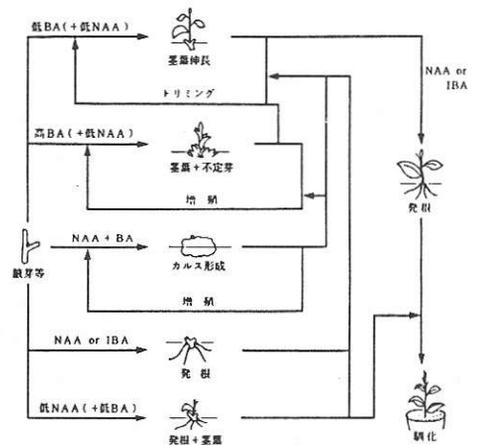


図 1 シオデの大量増殖技術