

リンドウの苗条原基誘導

清野栄美・仲野英秋・佐藤昌宏・小野恵二

(山形県立農業試験場)

Induction of Shoot Primordia in *Gentiana triflora* PALL. var. *japonica* HARA

Emi SEINO, Hideaki NAKANO, Yoshihiro SATO and Keiji ONO

(Yamagata Prefectural Agricultural Experiment Station)

1 はじめに

リンドウは、自殖劣性が強く、また挿し芽による繁殖法が確立されていない系統が多いことから、優良系統の維持・増殖は困難であると言われている。そこで、苗条原基法によるリンドウの増殖法を確立するため、エゾリンドウの苗条原基誘導及び維持・増殖条件について検討した。

2 試験方法

エゾリンドウ実生株の生長点を材料とし、4月下旬から5月上旬の花芽分化前に葉原基1~2対を付けた状態で摘出し(約0.5mm大)て供試した。基本培地はMS(ショ糖3%, pH 5.8)液体培地とし、培養条件は2 rpmの回転培養、25℃、16時間照明とした。

(1) 苗条原基の誘導

NAAとBA及びNAAとカイネチンを組合せた16種類の培地を供試し、苗条原基様集塊の誘導効率を調査した。

(2) 苗条原基の継代

誘導された苗条原基様集塊は、2週間ごとに継代培養を

行い、継代培地のホルモン組成と苗条原基様集塊の維持増殖との関係について調査した。

(3) 苗条原基からの植物体再生

継代培養した苗条原基様集塊は、BA1.0mg/ℓを含むMS固形培地(ショ糖3%, 寒天0.8%, pH5.8)に置床し植物体の再生を図った。

3 試験結果及び考察

(1) 苗条原基の誘導

培養1か月目の組織の状態を表1に示した。置床20日目頃から、伸長した早生分枝の基部が肥大し始め、緑色あるいは黄緑色を呈した苗条原基様組織が形成された。NAAとBAを組合せた場合、その誘導はBAの濃度に影響され、BA0.2mg/ℓで形成率が高く、特にBA0.2mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓ区で良好であった。これらの結果は既往の報告^{1, 3)}とほぼ一致するものであった。一方、NAAとカイネチンの組合せでは、NAAとBAの区に比べて誘導されるホルモン濃度の範囲が広がる傾向が見られた。

表1 ホルモン組成と苗条原基様組織の誘導

NAA (mg/ℓ)	BA (mg/ℓ)				カイネチン (mg/ℓ)			
	0.02	0.1	0.2	2.0	0.02	0.1	0.2	2.0
0.02	B:9	B:5	B:3	B:7	B:12	B:6	B:5	B:3
		B+SP:4	B+SP:8			B+SP:4	B+SP:6	B+SP:1
0.1	B:10	B:9	B:8	B:8	B:11	B:7	B:6	B:10
			B+SP:2		B+SP:1	B+SP:3	B+SP:4	B+SP:1
				B+D:2				B+D:2

注. 培養1か月後に調査。B: 早生分枝。SP: 苗条原基様集塊。

D: 退化。 C: カルス。 数字は個体数を示す。

(2) 苗条原基の継代

誘導された苗条原基様集塊は、伸長した早生分枝を切除して継代培養を行うことにより増殖した。継代培養における形態形成とホルモン組成について表2に示した。BA2.0mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓ区は緑色の集塊が良好に維持され、BA0.2mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓ区がこれに次いだ。NAAの濃度の高い区及びカイネチン添加区では、組織のカルス化、表面の褐変・退化がみられ、これらの区は苗条原基様集塊の継代には適さないものと考えられる。

長期継代の可能性を調査するため、良好に維持されている集塊を材料に、誘導と同じホルモン組成の培地で継代培養を続けた結果(表3)、BA2.0mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓ区の集塊は良好な状態を保ち続けた。

次に、継代培養におけるBA濃度が苗条原基様集塊の維持・増殖に及ぼす影響をみるため、効率的に誘導された区の集塊を材料に、培養6か月目にNAAを除去した4種類のBA単独添加培地に移植した(表4)。

その結果、BA0.2mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓ区で誘導

表2 継代培養における形態形成とホルモン組成

NAA (mg/ℓ)	BA (mg/ℓ)				カイネチン (mg/ℓ)			
	0.02	0.1	0.2	2.0	0.02	0.1	0.2	2.0
0.02	D:9	C+SP:4	B+SP:5	SP:5	C+SP:1	C+SP:2	C:3	D:9
		D:5	C:2	B+D:2	C:10	C:3	B+D:4	
			B:2		D:1	B+D:5	D:4	
			D:2					
0.1	C+SP:3	C+SP:1	C+SP:1	B+SP:2	C+SP:4	C:4	C+SP:1	C:1
	C:7	C:4	C:3	B:2	C:6	B+D:2	B:4	B+D:4
		D:4	B+D:2	D:6	D:2	D:4	D:5	D:8
			D:4					

注。培養3か月後に調査。

表3 苗条原基様集塊の維持増殖とホルモン組成

NAA	BA mg/ℓ	増殖程度	表面退化
0.02	0.1	+~++	±
0.02	0.2	++	±
0.02	2.0	++~+++	-
0.1	0.02	++	+

注。培養11か月後に調査。

表4 継代培地のホルモン組成と苗条原基様集塊の維持増殖

誘導培地 (mg/ℓ)	継代培地 (BA mg/ℓ)	増殖程度	表面退化
NAA 0.02	0.05	±	+
+ BA 0.2	0.1	++	-
	0.2	+++	-
	0.5	-	+
NAA 0.02	0.05	+	±
+ BA 2.0	0.1	+	-
	0.2	+	-
	0.5	+	-

注。培養6か月後に継代培地に移植。

した集塊をBA0.2mg/ℓ添加培地で継代した場合に最も増殖程度が高く、活性の高い状態を維持し、BAの濃度がこれより高くても低くても維持・増殖が不良となる傾向がみられた。

苗条原基の維持増殖がNAAを含まない培地で良好となる例はメロンでも報告されている²⁾ことから、今後NAA除去の効果については更に検討する必要があるものと思われる。

(3) 苗条原基からの植物体再生

培養10か月目の時点で活性の高い状態で維持されている

集塊を5mm大に調整して再分化培地に置床したところ、1か月から2か月後に植物体の再生が見られた。1置床片あたり多いもので5本、平均して2~3本のシュートが再生した。再生の見られた集塊の形態は、表面が小突起で覆われ、光沢に富むことが観察された。再生したシュートはホルモンフリー及び発根培地(NAA添加)で発根した。

4 ま と め

エゾリンドウの苗条原基の誘導と再分化の条件について検討した。苗条原基様組織は培養1か月目頃から誘導された。誘導培地のホルモン条件はBA0.2mg/ℓ+NAA0.02mg/ℓの組合せが適していた。苗条原基様集塊は、BA0.2mg/ℓ単独添加培地での継代培養において、比較的良好に維持される傾向が認められた。なお、良好に維持・増殖された集塊からは植物体の再生が見られた。

今後、苗条原基の誘導及び再分化の効率を高めながら効率的に冬至芽を形成する馴化苗を得るためには、誘導、維持・増殖、再分化培養におけるホルモン組成、培地の無機塩濃度、培養温度等について更に検討する必要がある。

引 用 文 献

- 1) 天野 良彦, 西澤 秀治, 谷口 研至, 近藤 勝彦, 西村繁夫. 1989. リンドウの苗条原基法によるクローン増殖. 育種 39(別2): 112-113.
- 2) 永井 輝行, 野村 幸雄, 大澤 勝次. 1989. メロンの苗条原基誘導と植物再生. 園学雑 58(別1): 208-209.
- 3) 田平 弘基, 下中 雅仁, 鷹見 敏彦, 大村 修司. 1989. エゾリンドウの苗条原基誘導. 園学雑 58(別2): 522-523.