

デルフィニウム・シネンシスの茎頂培養による大量増殖

鹿内靖浩・齋藤聡子・後藤 聡

(青森県農林総合研究センターフラワーセンター21あおもり・青森県中南地方農林水産事務所)

Micropropagation of *Delphinium grandiflorum* through Shoot Tip Culture

Yasuhiro SHIKANAI, Satoko SAITO* and Satoshi GOTO

(Aomori Prefectural Agriculture and Forestry Research Center, Ornamentals Experiment Station,

*Aomori Pref. Chunan Agriculture, Forestry and Fisheries Office)

1 はじめに

シネンシス系デルフィニウムはその草姿から主にアレンジメント向けの切り花として近年生産が伸びている品目である。本系統には花色や花型の変異が多く見られ、現在市販されている品種についても生産現場からの変異体を品種化したものが多い。このように変異体を品種化するにあたっては栄養繁殖、特に組織培養による大量増殖法を利用するのが非常に有効であるが、デルフィニウムの組織培養による増殖法に関しては、エラータム系及びペラドンナ系の品種において報告があるものの¹⁾シネンシス系に関しては未だ報告がない。

そこで、本試験においてシネンシス系品種‘マリンドブルー’及びその選抜品種である‘ハイランドブルー’を用いて組織培養による増殖法を検討したところ、一連の手法が確立できたので報告する。

2 試験方法

(1)初代培養

初代培養における培地中の窒素成分、固化剤の種類と濃度及び植物ホルモンの影響について検討した。‘マリンドブルー’及び‘ハイランドブルー’の市販種子を無菌は種し作成した無菌植物から、茎頂部を葉原基1～2枚つけた状態(φ0.3～0.5mm)で摘出し、1容器(培地10ml)あたり1茎頂の密度で初代培地に置床した。20℃、60μmol m⁻²s⁻¹、16時間照明下で培養した。4週間後、再生シュートの状態、シュート長、葉数、発根の有無について調査した。1区あたり20または30株供試した。

(2)増殖培養

増殖培養における培地中のBA濃度、糖及び基本塩基組成の影響について検討した。前記(1)にて得られた‘ハイランドブルー’の再生シュート由来の培養植物を材料に用いた。シュートの葉を基部から5mm程度の高さで切除し、1株あたりシュート2本に調整し、1容器(培地50ml)あたり5株の密度で増殖培地に置床した。20℃、60μmol m⁻²s⁻¹、16時間照明下で培養した。4週間毎にシュート数を調査し継代培養した。継代培養は5回行い、合計20週間培養した。また、最大シュート長を16及び20週間経過時に調査した。1区あたり20株供試した。

(3)発根培養

発根培養における培地中のsucrose濃度の影響について検討した。前記(2)の手法を用いて増殖した‘マリンドブルー’の培養植物を材料に用いた。シュートを1本ずつに分割し葉をすべて切除し、1容器(培地50ml)あたり5株の密度で発根

培地に置床した。20℃、60μmol m⁻²s⁻¹、16時間照明下で培養した。6週間後、発根率、根数、最大根長を調査した。1区あたり100株供試した。

3 試験結果及び考察

(1)初代培養

初代培地の窒素成分から硝酸アンモニウムを除いたところ、再生シュートの水浸状化の抑制とともに正常再生率の向上が認められた(表1)。さらに固化剤の濃度を高く(6g/l Gelriteまたは12g/l agar)したところ、水浸状化が認められなくなった一方で枯死率が高くなり、かえって正常再生率が低下した(表2)。しかし、0.02mg/lのBAを培地に添加したところ枯死率の低下が認められ、3g/lのGelriteを用いた場合と同水準もしくはそれ以上の正常再生率が認められた。

以上の結果から、初代培地はMSの組成からアンモニア態窒素を除き6g/lのGelrite及び0.02mg/lのBAを添加するのが最適と考えられた。

(2)増殖培養

増殖培地に添加するBA濃度の影響は、増殖率に関しては有意差は認められなかったが、0.5～2.0mg/lとした場合において高くなる傾向が認められた(表3)。一方、シュート長は0.1～0.5mg/lとした場合において大となり、1mg/l以上とした場合明らかな低下が認められた。培地に添加する糖の影響には増殖率、シュート長ともに有意差は認められなかったが、maltoseを用いた場合において増殖率が低下する傾向が認められた(表4)。培地の基本塩基組成の影響は、MSを用いた場合において増殖率が最大となり、MS(-NH₄NO₃)及びB5を用いた場合において増殖率の明らかな低下が認められた(表5)。さらにB5を用いた場合においてはシュート長に関しても明らかな低下が認められた。

以上の結果から、増殖培地はMS基本塩基組成に0.5mg/lのBA及び50mM(約15g/l)のsucroseを添加するのが最適と考えられた。

(3)発根培養

供試したsucrose濃度のいずれにおいても90%以上の発根率が認められ、なかでも10g/l以下とした場合において発根率が97%以上と高くなった(表6)。特に3g/lとした場合においてはすべてのシュートに発根が認められたため、3g/lのsucrose添加が最適と考えられた。

4 まとめ

本試験の結果から得られた最適培養条件における培養効率は、シュート再生率が100%、増殖率が2.35～2.81倍、発根率が100%であった。茎頂部から再生したシュートが移植

可能となるまでに8週間、増殖の1サイクルに4週間、発根し順化可能となるまでに6週間、順化に4週間それぞれ必要とすると、1年間(52週間)で8サイクルの増殖が可能であり、理論上は930～3,887倍の増殖が可能と推察された。

なお、本法を用いて増殖した苗をほ場にて開花させたところ、培養変異と考えられる劣悪な変異は認められなかった。

引用文献

- 1)天谷正之, 岡部陽一, 米内貞夫. 1992. デルフィニウムの組織培養による大量増殖. 栃木農研報 39:43-52
- 2)後藤聡, 畑井昭一郎. 2000. デルフィニウムの茎頂培養による大量増殖. 東北農研 53:243-244

表1 初代培養培地¹の窒素成分がシュート再生に及ぼす影響

基本塩基組成	シュートの状態(%)				シュート長 ³ (mm)	葉数 ³ (枚)	発根率 ³ (%)
	正常再生	水浸状化	生育不良 ²	枯死 ²			
MS(1/3 NH ₄ NO ₃ , KNO ₃)	58.6	25.7	12.9	2.9	11.2	1.4	36.6
MS(-NH ₄ NO ₃)	93.3	3.3	3.3	0	12.8	1.8	64.3
MS(-KNO ₃)	40.0	23.3	16.7	20.0	10.3	1.2	16.7

(注)1 PVP 500mg/l, sucrose 15g/l, Gelrite 3g/l, pH 5.6とした

2 生育不良:シュートの伸長なし、生長点は緑色

枯死:シュートの伸長なし、生長点褐変

3 正常再生シュートのみ調査

表2 初代培養培地¹における固化剤とホルモンの影響

固化剤 (g/l)	添加ホルモン (mg/l)	シュートの状態(%)				シュート長 ³ (mm)	葉数 ³ (枚)	発根率 ³ (%)
		正常再生	水浸状化	生育不良 ²	枯死 ²			
Gelrite	なし	55	0	0	45	4.4	1.0	18.2
	BA 0.02	100	0	0	0	5.3	1.2	5.0
6	NAA 0.02	95	0	0	5	6.8	1.4	73.7
	なし	85	0	0	15	3.7	1.0	0
agar	BA 0.02	95	0	0	5	6.3	1.2	10.5
	NAA 0.02	75	15	0	10	5.7	1.3	86.7
12								

(注)1 MS(-NH₄NO₃), PVP 500mg/l, sucrose 15g/l, pH 5.6とした

2 生育不良:シュートの伸長なし、生長点は緑色

枯死:シュートの伸長なし、生長点褐変

3 正常再生シュートのみ調査

表3 増殖培地¹に添加するBA濃度が増殖及び生育に及ぼす影響

BA濃度 (mg/l)	増殖率 (倍)	シュート長 (mm)
0.05	2.00	22.7 bc ²
0.1	2.29	27.6 a
0.2	2.24	24.2 ab
0.5	2.57	26.5 ab
1	2.60	22.0 c
2	2.59	20.7 c
F test	NS	p<0.001

(注)1 MS, PVP 500mg/l, sucrose 15g/l,

Gelrite 3g/l, pH 5.6とした

2 同一文字間に有意差なし(Scheffe p<0.05)

表5 増殖培地¹の基本塩基組成が増殖及び生育に及ぼす影響

基本塩基組成	増殖率 (倍)	シュート長 (mm)
MS	2.81 a ²	29.6 a
MS(-NH ₄ NO ₃)	1.88 b	31.0 a
B5	1.83 b	12.9 b
Hyponex 2g/l	2.28 ab	31.0 a
Hyponex 3g/l	2.59 ab	29.5 a
F test	p<0.01	P<0.001

(注)1 PVP 500mg/l, BA 0.5mg/l, sucrose 15g/l,

Gelrite 3g/l, pH 5.6とした

2 同一文字間に有意差なし(Scheffe, p<0.05)



図1 組織培養による大量増殖のプロトコル

表4 増殖培地¹に添加する糖の種類が増殖及び生育に及ぼす影響

糖類	増殖率 (倍)	シュート長 (mm)
sucrose	2.35	27.5
maltose	1.97	29.3
glucose	2.43	28.4
fructose	2.50	28.7
mannitol	2.20	25.9
F test	NS	NS

(注)1 MS, PVP 500mg/l, BA 0.5mg/l,

糖類50mM, Gelrite 3g/l, pH 5.6とした

表6 発根培地¹に添加するsucroseの濃度が発根に及ぼす影響

sucrose (g/l)	発根率 (%)	根数 (本)	最大根長 (mm)
0	97	5.1	14
1	97	5.8	22
3	100	5.7	25
10	98	5.6	25
30	91	4.5	17

(注)1 微粉ハイポネックス1g/l, agar 8g/l, pH 5.6とした