

有用遺伝資源(アスパラガス、リンドウ、カラー)の培養物による長期保存技術

鈴木芳成*・松野香子・佐久間秀明

(福島県農業総合センター・*福島県北農林事務所)

Long Term Storage of Asparagus, Gentiana and Zantedeschia Genetic Resources Using Tissue Culture

Yoshinari SUZUKI*, Takako MATSUNO and Hideaki SAKUMA

(Fukushima Agricultural Technology Centre・*Ken-poku Agriculture and Forestry Office)

1 はじめに

遺伝資源を培養物の状態で維持するためには、定期的に継代作業を行う必要がある。しかし、継代作業には多くの労力とコンタミネーションの危険性がある。そこで、筆者等は1年程度継代することなしに培養物を容器内で維持するための保存技術¹⁾を開発したので報告する。

2 試験方法

(1) 供試材料

アスパラガス個体[0117]の培養シュート、リンドウ個体「TY1-11-4」の培養越冬芽、カラー品種「レーマニーカーミネア」の培養シュート

(2) 培地条件

アスパラガス：1/2MS+NAA0.1mg/l+BA0.1mg/l+アミノ酸0.5mg/l+ショ糖+寒天1.0% pH6.0

リンドウ：1/2MS+ショ糖+ゲルライト0.2% pH6.0

カラー：MS+ショ糖+ゲルライト0.2% pH6.0

(3) 培養方法

増殖したシュートおよび培養越冬芽を約5mmに調整し、培地を10ml注入した試験管で培養を行った。

(4) 区の構成

2008～2009年：ショ糖濃度0、3、9%とした基本培地と培養温度5、10、15℃を組み合わせた条件で、アスパラガス培養シュートおよびリンドウ培養越冬芽の保存を検討した。培養温度5℃は24時間暗黒、10℃および15℃は照度2,000Lux、18時間日長とした。アスパラガス、リンドウとも6ヶ月毎の生育状況、生存率を調査し、アスパラガスは、生育適温(25℃)に戻してから再分化率についても調査した。

2009～2010年：0、5、10mg/lのABAを添加した基本培地(ショ糖3%)と培養温度5、10、15℃を組み合わせた条件で、アスパラガス培養シュートおよびリンドウ培養越冬芽の保存を検討した。培養温度5℃は24時間暗黒、10℃および15℃は照度2,000Lux、18時間日長とした。アスパラガス、リンドウとも6ヶ月毎の生育状況、生存率を調査し、アスパラガスは、生育適温(25℃)に戻してから再分化率、リンドウは6ヶ月毎の草丈についても調査した。

また、ショ糖濃度3、6、9%とした基本培地でカラー培養シュートから形成した小球根の保存を検討した。培養温度25℃で、照度2,000Lux、18時間日長とし、小球根形成の有無、小球根の大きさ、シュートの状態を調査した。

参考までに慣行の培地と培養条件を示す。

(アスパラガス)

培地条件：MS+NAA0.1mg/l+BA0.1mg/l+アミノ酸0.5mg/l+ショ糖3%+寒天1.0% pH6.0

培養条件：照度2,000Lux、18時間日長、25℃
(リンドウ)

培地条件：1/2MS+ショ糖3%+ゲルライト0.2% pH6.0

培養条件：照度2,000Lux、18時間日長、15℃
(カラー)

培地条件：MS+ショ糖3.0%+ゲルライト0.2% pH6.0

培養条件：照度2,000Lux、18時間日長、25℃

3 試験結果及び考察

アスパラガスについては、5℃の温度条件で保存した場合、どのショ糖濃度においても保存12ヶ月後の生存率が100%で、培養シュートからの再分化についても95%が正常なシュートであった(表1)。

また、アスパラガス培養シュートの生存率は、ABA無添加培地で保存した場合に高く、特に、5℃の温度条件で保存した場合、保存16ヶ月後の生存率が93.3%と最も高かった(表2)。また、培養シュートからの再分化も5℃、ABA無添加培地で保存した場合は85.7%が正常なシュートだった(表2)。これらのことから、アスパラガスは5℃で培養した場合、休眠状態となり生存率が高まったと推察された。また、ABAの添加により生存率が低下する傾向が見られた。

リンドウについては、10℃、ショ糖3%および9%添加した培地で保存した場合、保存18ヶ月後の培養越冬芽生存率が100%と高く、特に、ショ糖9%添加培地では、あまり伸長せず培養越冬芽の形態が維持された(表3)。

また、リンドウ培養越冬芽の生存率は、15℃、ABA添加培地で保存した場合にやや低かったが、それ以外は全て100%と高く、ABA5mg/lまたは10mg/l添加した培地で保存した場合に培養越冬芽の形態を維持していた(表4)。

さらに、リンドウ培養越冬芽は、いずれの温度条件においてもABA無添加培地に比べ、5mg/lまたは10mg/l添加した培地で保存した場合に草丈が低かった(図1)。培養温度5℃、ABA無添加培地で節間伸長し、草丈が高かったのは休眠打破されたためと考えられる。

カラーについては、培養シュートから形成した小球根の状態を継続したところ、ショ糖濃度6%および9%添加した培地で保存した場合、シュート切除等の操作をすることなく、培養容器内で18ヶ月間保存できた(表5)。ショ糖濃度6%および9%でシュートが伸長しなかったのは、浸透圧が高く水分を吸収できなかったためと推察された。

4 まとめ

アスパラガス培養シュートは、5℃の温度条件で培養することで16ヶ月程度継代することなく培養容器内で保存でき、保存後も正常シュートの再分化率が高いことが確認できた。

リンドウ培養越冬芽は、ショ糖3%および9%添加した培地で、10℃の温度条件、または、ABA（アブジン酸）を0~10mg/l添加して5~15℃の温度条件で培養することで、18ヶ月程度の保存が可能であった。特にABA添加は、培養越冬芽の伸長を抑制し、培養越冬芽の形態を維持する効果が見られた。

カラーの培養シュートは、ショ糖6%および9%添加したMS培地で小球根を形成させることで、継代やシュートの切除等の操作をすることなく18ヶ月間培養容器内での保存が可能であった。

引用文献

- 1) 大澤勝次, 江面 浩. 2005. 新版 図集・植物バイオの基礎知識. p119-123

表1 アスパラガス培養シュート保存に及ぼすショ糖濃度および培養温度の影響(2008、2009年)

ショ糖濃度 (%)	温度 (°C)	6ヶ月後の生存率 (%)		12ヶ月後の再分化状況 (%)		
		6ヶ月後	12ヶ月後	正常	正常+ガラス化	ガラス化
0	5	100	100	95.0	5.0	0.0
0	10	0	0	-	-	-
0	15	0	0	-	-	-
3	5	100	100	95.0	5.0	0.0
3	10	100	100	35.0	45.0	20.0
3	15	100	0	-	-	-
9	5	100	100	95.0	5.0	0.0
9	10	100	100	85.0	15.0	0.0
9	15	100	85	64.7	13.5	11.8

表2 アスパラガス培養シュート保存に及ぼすABA添加量および培養温度の影響(2009、2010年)

ABA添加量 (mg/l)	培養温度 (°C)	生存率 (%)			保存16ヶ月後のシュートの状態	保存16ヶ月後の再分化の状況
		6ヶ月	12ヶ月	16ヶ月		
0	5	100.0	100.0	93.3	白色化、シュートの伸長はほとんどなし	正常85.7%、ガラス化14.3%
0	10	93.3	93.3	73.3	シュートの伸長はほとんどなくガラス化	ガラス化100%
0	15	93.3	93.3	73.3	シュートの伸長はほとんどなくガラス化	ガラス化100%
5	5	86.7	86.7	73.3	白色化、シュートの伸長はほとんどなし	正常81.8%、ガラス化18.2%
5	10	53.3	53.3	46.7	シュートの伸長はほとんどなくガラス化	ガラス化100%
5	15	53.3	53.3	40.0	シュートの伸長はほとんどなくガラス化	ガラス化100%
10	5	53.3	53.3	40.0	シュートの伸長はほとんどなくガラス化	ガラス化100%
10	10	33.3	33.3	6.7	ほとんど枯死	-
10	15	6.7	6.7	6.7	ほとんど枯死	-

表3 リンドウ培養越冬芽保存に及ぼすショ糖濃度および培養温度の影響(2008、2009年)

ショ糖添加量 (%)	培養温度 (°C)	生存率 (%)			保存18ヶ月後の培養越冬芽の状況
		6ヶ月後	12ヶ月後	18ヶ月後	
0	5	100.0	100.0	0.0	すべて枯死
0	10	66.7	50.0	50.0	展葉、細いシュートに変化
0	15	100.0	33.3	33.3	展葉、細いシュートに変化
3	5	100.0	100.0	100.0	節間伸長
3	10	100.0	100.0	100.0	下位節間伸長、越冬芽の形態維持
3	15	100.0	83.3	80.0	下位節間伸長、越冬芽の形態維持
9	5	100.0	100.0	90.0	節間伸長
9	10	100.0	100.0	100.0	越冬芽の形態維持
9	15	100.0	100.0	20.0	越冬芽の形態維持

表4 リンドウ培養越冬芽保存に及ぼすABA添加量および培養温度の影響(2009、2010年)

ABA添加量 (mg/l)	培養温度 (°C)	生存率 (%)			保存18ヶ月後の培養越冬芽の状況
		6ヶ月後	12ヶ月後	18ヶ月後	
0	5	100	100	100	節間伸長
0	10	100	100	100	下位節間伸長、越冬芽の形態維持
0	15	100	100	100	下位節間伸長、越冬芽の形態維持
5	5	100	100	100	越冬芽の形態維持
5	10	100	100	100	越冬芽の形態維持
5	15	100	100	80	越冬芽の形態維持
10	5	100	100	100	越冬芽の形態維持
10	10	100	100	100	越冬芽の形態維持
10	15	100	100	70	越冬芽の形態維持

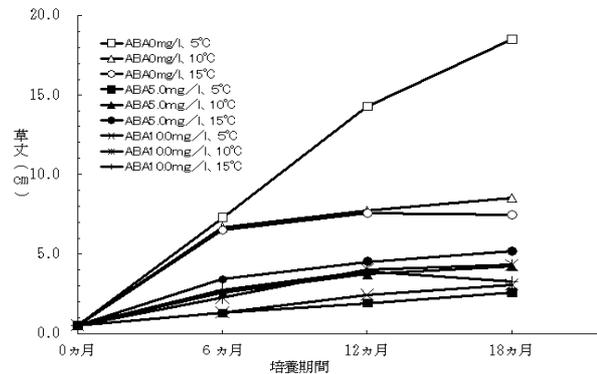


図1 リンドウ培養越冬芽の生育に及ぼすABA添加量および培養温度の影響(2009、2010年)

表5 カラーの培養シュートからの小球根形成に及ぼすショ糖濃度の影響(2009、2010年)

品種名	ショ糖濃度 (%)	小球根形成率 ¹⁾ (%)	球根重 ¹⁾ (g)	球根径(mm) ¹⁾		備考 ²⁾
				長径	短径	
レーマニーカーミネア	3	100	0.4	8.7	7.8	シュート2回切除
	6	100	0.5	10.3	9.1	
	9	100	0.5	11.5	10.2	

1) 培地置床18ヶ月後に調査。

2) 茎葉が容器のふたまで伸長し折れ曲がった状態になったため培地から約3cmの高さで茎葉を切除。