

よりウイルスフリー化が可能なことが実証された。今後グロリオサにおいてもその可能性を検討する発用があろう。

今回、グロリオサとエビネ属を材料として組織培養を行い、グロリオサにおいては実用化に近づくことができた。また、エビネ属については、これまで困難とされていた大量増殖が可能であることが実証され、さらに変異についても実用上問題なく、ウイルスフリー化も達成できることがわかったため、今後、茎頂からのPLB誘導の効率を高めるなど、より実用化に向けた研究が必要であろう。

摘要

植物における組織培養の利用はヘテロな植物を短期間に大量に増殖するためには非常に有効な手段であるが、すべての植物において、組織培養による増殖法が確立されているわけではない。この研究では、難増殖性とされるグロリオサとエビネを材料に増殖技術、順化方法、培養変異、ウイルス検定について増殖の実用化および課題について検討を行った。

グロリオサ (*Gloriosa rothschildiana* O'Brien) の茎頂と幼芽基部を外植体として植物調整物質のBAを4 mg l⁻¹、NAAを0.1 mg l⁻¹添加したMS培地で培養した。その結果、培養150日後には、茎頂は平均5本のシュートを、幼芽基部は平均47.2本のシュートを形成した。シュートの数は、初代培養と同じ培地で継代を繰り返すことにより、およそ1ヶ月で2~3倍に増えた。継代培養の期間を延長することにより、シュートの基部に小塊茎を形成させた。休眠している小塊茎を発芽させるためには、8℃で2週間、続けて30℃で13週間の連続処理が有効で、1g以上の小塊茎の約85%が発芽した。小塊茎は低温により休眠打破され、続く高温により芽が成育したと推察された。発芽した小塊茎は圃場栽培により正常に成長し、塊茎を形成した。2作目で植え付けた5g以上の塊茎の80%は開花した。花も含めて形態的な培養変異は認められず、実用的な培養苗生産方法が確立できた。

エビネ属の組織培養による増殖は困難であり、ほとんど報告がない。キエビネ (*Calanthe sieboldii* Decne.) の茎頂を材料として増殖方法を検討した。地中内に存在する休眠芽を培養材料とするため、従来の殺菌方法を改善し、通常の2倍の殺菌時間とした結果、5月でも5.9%の汚染率ですみ、有効な殺菌方法が確立できた。殺菌した茎頂を回転培養によ

り、液体培地で苗条原基集塊の誘導を試みた。基本培地としてはMS培地、1/2MS培地、B5培地を検討した結果、B5培地の生存率が優れていた。植物調整物質は、BA単独またはBAとNAAの組み合わせがよかった。さらに生存率をあげる為に、B5培地のマクロ培養、ミクロ要素、有機物の3つに分けて、それぞれ1/1倍、1/2倍、1/4倍とし、これを組み合わせた培地で茎頂分裂組織を培養した。生存率はミクロ要素を1/4倍としたときが最も高かった。苗条原基は、特定の培地組成による液体培地で回転培養により長期間維持され、ハプロパッパス (*Haplopappus gracilis*) では9年間維持されたと報告がある(谷口・田中1993)。しかし、ラン科植物であるネジバナでは、PLBには胚発生型、腋芽増殖型、苗条原基型、それらの混成型がある(Sato et al. 1987)。実際、筆者が誘導したキエビネに於いても苗条原基型を長期間維持することは困難で、一部はPLBに発達した。PLB集塊は苗条原基を寒天培地に置床することにより得られ、これを液体培地に移植したところ活発に増殖した。培養2ヶ月後のPLBの増殖率は数で11倍、生重量で10倍になり、大量増殖に利用できることがわかった。

この茎頂培養方法により誘導したキリシマエビネ (*C. aristulifera* Rchb. f.) とタカネ (*C. striata* R. Br. ex Lindl.) のPLB増殖培地について、12種類の異なるイオン組成培地を使い、系統変異法により検討した。PLBの成長は培地のイオン組成により大きな影響を受け、高比率のNH₄⁺及びCa²⁺により阻害され、高比率のK⁺及びH₂PO₄⁻により促進された。計算による最適なイオン組成は、キリシマエビネとタカネにおいて、それぞれ、陽イオン区はNH₄⁺: K⁺: Ca²⁺: Mg²⁺ = 10.4: 70.0: 9.6: 10.0と10.9: 68.1: 11.0: 10.0、陰イオン区はNO₃⁻: H₂PO₄⁻: SO₄²⁻ = 42.1: 43.7: 14.2と43.0: 42.9: 14.1であった。最適なイオン組成はコントロールとしたB5培地に比較して、NO₃⁻は半分程度であり、H₂PO₄⁻は12倍であった。

組織培養により増殖し、開花した100株のタカネを調査した。2株を除いて、花の形、色には大きな変異はなかったが、この2株の花は大きく、花弁は厚かった。変異した植物の倍数性を、フローサイトメーターにより確認した結果、そのDNA量は、元の株に比べて2倍であり、4倍体であることが確認された。また茎頂培養由来個体のウイルスフリー化も確認できた。この結果、エビネ属における培養苗生産に関する基礎的な知見が得られた。