

カラソコエの組織培養による ウイルスフリー株の大量増殖 (その1)

機 部 実

鉢物用カラソコエの増殖は、実生および挿し木による栄養繁殖が一般的である。

本園では、展示用に数品種のカラソコエを保存栽培し、毎年春に挿し木をして更新増殖している。しかし、挿し木による栄養繁殖を何世代も行うと、ウイルス病に感染し、生育が悪くなり、展示にも支障をきたすことになる。この問題を解決するためには、ウイルスフリー苗の供給が必須であると考えられる。

ウイルスフリー苗の作出の一方法として、カルス培養法が用いられている〔イチゴの薬（大沢勝次ら1974）、タバコの葉（森寛一ら1973）、フキの花茎および葉柄（森下正博ら1980）、フキの葉身および葉柄（矢部和則ら1985）など〕。

カラソコエにおいてもカルス培養によるウイルスフリー苗の作出が可能であると考え、ウイルスフリー株と大量の苗を得ることを目的に培養実験を行ったのでその概略を報告する。

材料と方法

材料は、品種ゴールデンメロディーを用いた。直径2～3cmの若い葉と、長さ約2cmの新茎を探り、70%エタノールで約10秒、次に次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)1%液で10分間消毒し、葉は約1cm角に、新茎は約1cmの長さに切って置床した。

培地は、イギリスFlow Laboratories社製のM & S培地を用い、初期培養には液体培地、苗化用には固体培地として、pHを5.5に調整した。植物ホルモンは、NAAとBAを表1～3のように組み合わせて添加し、25試験区を設定した。温度は25°C±2°C、照明は約2000Lux16時間日長とした。

結 果

1. 葉切片からの器官の形成

植えつけ組織は、置床20日後には、1～5区で約2倍、6～25区で3～4倍に肥大した。30日後には4、5、9、12～25区では組織の切り

表1. カラソコエの葉切片からの組織培養の結果

(培養90日後)

BA mg/ℓ	0	0.02	0.2	2	4
NAA mg/ℓ	1 R+	6 R+	11 C+ R+	16 S+ C+	21 S+ C+
0	1 R+	6 R+	11 C+ R+	16 S+ C+	21 S+ C+
0.02	2 R+	7 R+	12 S+ C+ R+	17 S+ C+	22 S+ C+
0.2	3 R+	8 C+ R+	13 S+ C+ R+	18 S+ C++	23 S+ C++
2	4 C+ R+	9 C+ R+	14 C+	19 S+ C++	24 C+++
4	5 C+	10 C+	15 C+ R+	20 C++	25 C+++

形成器官：C；カルス、S；シュート、R；根
器官形成程度：+少ない、++多い、+++極多い

表2. カラソコエの茎切片からの組織培養の結果

(培養90日後)

BA mg/ℓ	0	0.02	0.2	2	4
NAA mg/ℓ	1 R+	6	11	16 C+	21
0	1 R+	6	11	16 C+	21
0.02	2 R++	7	12 S+ C++	17 C+	22
0.2	3 C+	8 C+ R+	13 C++	18 C+	23 S+ C+
2	4 C+	9 C++	14 C+	19 C+++	24 C+++
4	5 C+	10	15 C+	20 C+++	25 C+++

記号は表1参照

表3. カラソコエ組織培養におけるカルスからの器官形成の結果

(培養120日後)

BA mg/ℓ	0	0.02	0.2	2	4
NAA mg/ℓ	1	6	11	16	21
0	1	6	11	16	21
0.02	2	7	12	17	22
0.2	3 R+	8 S++ R+	13 S+ R+	18 S++ R+	23 S++ R+
2	4	9 R+	14 R+	19 S+ R+	24 S++
4	5	10	15 R+	20 S+ R+	25 R+

記号は表1参照

口からカルスが形成され、23区ではシュート、1、4、8、12区では発根が見られた。

90日後には4、5、8～25区ではカルスが形成され、特に24、25区でカルスの形成が良かつた。そして12、13、16～19、21、22、23区では、シュートが形成された。発根は1～4、6～9、11～13、15区で見られた。

2. 茎切片からの器官の形成

置床10日後には植えつけ組織は肥大が始まり、ヒョウタン型に組織が変形した。

30日後には、3, 4, 8, 13, 14, 18, 19, 23, 24区では、切り口にカルスが形成され、1, 2区では発根が見られた。

90日後には、3, 4, 5, 8, 9, 12~20, 23~25区でカルスが形成され、特に19, 20, 24, 25区ではカルス形成が良かった。23区では、シートが形成され、1, 2, 8区で発根が見られた。

3. カルスからの器官の形成

継代培養した葉切片由来のカルスを約1cm角に切って25試験区の固形培地に置床した。置床したカルスは60日後には、13, 18, 23区でシートが形成され、9, 14, 15区では発根が見られた。

120日後には、8, 13, 18, 19, 20, 23, 24区でシートの形成が見られ、3, 8, 9, 13, 14, 15, 18, 19, 20, 23, 25区で発根が見られた。これらのなかで、シートと発根の両方が見られたのは8, 13, 18, 19, 20, 23区で、特に23区ではシートの形成がもっとも良く、置床200日後には、フラスコ内に茎葉が叢生した。

考 察

葉切片と茎切片からは、カルスやシート、発根が見られたが、その中でもカルスの形成が広い範囲の試験区で見られた。

初期培養において、葉切片と茎切片との培養で両方ともシートを形成したのは23区であり、初期培養におけるシート形成にはNAA0.2, BA4.0が適切と考えられる。

初期培養において、器官形成のための採取部位は、茎切片よりも葉切片の方が枯死するものが少なく、器官の形成が良かったので、葉切片を利用するほうがより適切であると考えられる。

葉切片と茎切片の初期培養において、置床60~90日後にはカルスが試験管内に充満し、生育が止まる状態になったので、カルスの増殖には、60日以内の植え継ぎが必要である。

カルスからの器官の形成については、23区(NAA0.2, BA4.0)においてシート形成及

び発根が最良であった。しかし、これらの器官の形成にやや時間がかかりすぎるので、さらに短時間に培養を進めるために、基本培地や添加植物ホルモン、培養条件等の再検討が必要であろう。

なお、現在育成中の培養苗は増殖中で、今後馴化試験及びウイルスの保毒率の検定が必要であり、その結果はあらためて報告したい。

参考文献

森寛一ほか (1973). 関東東山病害虫研究会年報20:76.

大沢勝次ほか (1974). やく培養の利用に関する研究. 野菜試験場報告A第1号:41~57.

森下正博ほか (1980). フキの花茎および葉柄組織からのウイルスフリー株の大量育成. 大阪府農業技術センター研究報告17: 1~6.

矢部和則ほか (1985). 栽培ブキの葉身および葉柄培養. 園芸学会研究発表要旨172~173.

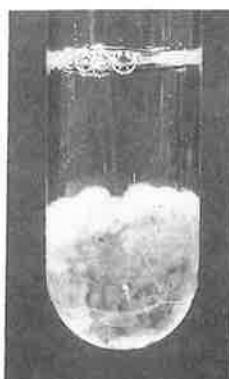


図 1



図 2



図 3