

## デルフィニウムの茎頂培養による大量増殖

誌名	東北農業研究
ISSN	03886727
巻/号	53
掲載ページ	p. 243-244
発行年月	2000年12月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



## デルフィニウムの茎頂培養による大量増殖

後藤 聡・畑井 昭一郎

(フラワーセンター21あおもり)

Micropropagation of *Delphinium* by Shoot Tip Culture

Satoshi GOTO and Shoichiro HATAI

(Aomori Ornamentals Experiment Station)

### 1 はじめに

青森県では、県名にちなみ青い花色を持つデルフィニウムの育種に取り組んでいる。組織培養技術を活用することによって、育種や種苗の増殖を効率よく進めることができる。そこで茎頂培養を利用したデルフィニウムの大量増殖方法について検討した。

### 2 試験方法

#### (1) 初代培養

基本培地にはショ糖 3%, ポリビニルピロリドン (PVP, 平均分子量40,000) 0.05%及びジェランガム0.3%を含むMS培地 (KNO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> のみ1/3に減量) を用いた。BAとNAAを組み合わせて9区ホルモン条件を設定し、表面殺菌したデルフィニウム (ベラドンナタイプ) の茎頂 (葉原基 3~4枚) を各培地へ置床した。培養は20°C, 16時間明期で行った (以下の実験も同様)。

#### (2) 増殖培養

基本培地は試験方法 (1) に準じた (ただしMSは標準の濃度)。BA濃度を0, 0.5, 1, 2, 5, 10mg/lの6段階に設定し、シュート数が1株当たり2~4本になるように調製した後培地へ置床した。3週間後、置床時と同様に株を分割した後株数を調査し増殖率を求めた。

#### (3) 発根誘導

##### 1) 発根誘導培地

微粉ハイポネックスとショ糖を組み合わせて4区発根誘導培地を設定した。固化剤には寒天 (0.8%) を用いた。また対照区としてショ糖 3%, ジェランガム0.3%を含む1/2 MS培地 (KNO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>のみ1/2に減量) を用いた<sup>1)</sup>。増殖培養中の株からシュートを1本ずつ分離し、葉を切除後培地へ置床した。

##### 2) 発根誘導時のシュートの葉数

発根誘導培地には、微粉ハイポネックス 1g/l, 寒天 8g/lを用いた。シュートの葉数を0, 2, 4 (無調製) 枚に調製後培地へ置床した。

##### 3) 発根誘導時のシュート長

培地は試験方法 (3)-2) に準じた。長さ 1, 2, 3 cmのシュートを葉を切除した後培地へ置床した。

### 3 試験結果及び考察

#### (1) 初代培養

正常シュートの再生個体数並びにシュート長、葉数はBA 2.0mg/l区で優れていた。しかしこれにNAAを0.2mg/l添加した区では、塊根部のカルス化が著しく、白く水っぽいカルスが形成された。また再生したシュートも徒長気味であった。一方BA2.0mg/l, NAA 0若しくは0.02mg/l区では健全なシュートが再生し、また揃いも良かった。以上の結果、初代培養培地のホルモン条件は、BA2.0mg/l, NAA 0若しくは0.02mg/lが適当と考えられた (表1)。

表1 初代培養時のホルモン組成がシュート再生に及ぼす影響 (1ヶ月後)

BA (mg/l)	NAA (mg/l)	置床個体数	正常シュート再生個体数	シュート長 (cm)	葉数 (枚)	カルス形成程度
0	0	10	6	0.6	1.4	-
	0.02	10	3	1.1	1.6	+
	0.2	10	4	1.1	2.0	++
0.2	0	10	8	0.9	1.8	-
	0.02	10	7	1.4	2.4	-
	0.2	10	10	2.3	4.3	+++
2	0	10	8	1.4	4.1	+
	0.02	10	10	1.4	4.3	+
	0.2	10	6	2.2	5.2	+++

正常な形態のシュートのみを調査した。カルス形成程度は達観で4段階 (形成なし:-, 形成小:+, 中:++, 大:+++ ) に分けて判定した。

#### (2) 増殖培養

増殖率はBA濃度が高くなるにつれて増加する傾向を示し、BA10mg/l区で最も高くなった。ホルモンフリー区の株は、BA添加区に比べて生育が著しく劣り、発根する株も多かった。BA5並びに10mg/l区では、他の区に比べて若干シュート長が短くなる傾向が見られたが、それ以外のシュートの形態には、BA濃度の違いによる大きな差は見られなかった (表2)。

表 2 増殖培養時の BA 濃度が増殖率に及ぼす影響 (5 反復)

BA 濃度 (mg/l)	置床株数	1 回目増殖株数 (増殖率)	2 回目増殖株数 (増殖率)	3 回目増殖株数 (増殖率)	4 回目増殖株数 (増殖率)	5 回目増殖株数 (増殖率)	平均増殖株数 (平均増殖率)
0.0	20	30 (1.5)	35 (1.8)	38 (1.9)	33 (1.7)	30 (1.5)	33.2 (1.7)
0.5	20	44 (2.2)	47 (2.4)	43 (2.2)	42 (2.1)	32 (1.6)	41.6 (2.1)
1.0	20	39 (2.0)	50 (2.5)	49 (2.5)	43 (2.2)	36 (1.8)	43.4 (2.2)
2.0	20	46 (2.3)	51 (2.6)	51 (2.6)	39 (2.0)	39 (2.0)	45.2 (2.3)
5.0	20	55 (2.8)	52 (2.6)	54 (2.7)	48 (2.4)	51 (2.6)	52.0 (2.6)
10.0	20	58 (2.9)	57 (2.9)	67 (3.4)	47 (2.4)	45 (2.3)	54.8 (2.7)

(3) 発根誘導

1) 発根誘導培地

発根率はショ糖 0 g/l 区で高かった。発根苗の形質は微粉ハイポネックス 3 g/l, ショ糖 0 g/l 区が最も優れていたが、微粉ハイポネックス 1 g/l, ショ糖 0 g/l 区でもほぼ同等の品質であった。(表 3)。

2) 発根誘導時のシュートの葉数

発根率はすべての区で 90% 以上であった。発根苗の品質は、葉数 0 枚区でも順化に十分耐えるものであった。また置床時に株からシュートを 1 本ずつ分離するためには、葉をすべて切除した方が作業は容易であった(表 4)。

3) 発根誘導時のシュート長

発根率はすべての区で 95% 以上だった。発根苗の形質は、置床時のシュート長が長い方が優れる傾向が見られたが、シュート長 1 cm 区でも順化に耐えうる十分な品質が得られた(表 5)。

以上の結果、発根誘導培地としてはハイポネックス 1 又は 3 g/l, ショ糖 0 g/l が適していると考えられた。また置床時にシュートの葉をすべて切除しても、十分な品質の発根苗が得られることがわかった。さらに発根誘導には、シュート長 1 cm のものから使用できることがわかった。

表 3 発根誘導時の基本培地の組成が発根に及ぼす影響 (1 ヶ月後)

基本培地	ショ糖濃度 (g/l)	置床個体数	発根率 (%)	シュート長 (cm)	葉数 (枚)	根数 (本)	最大根長 (cm)	1 株当たりシュート数(本)
微粉ハイポネックス	0	30	96.7	5.3	4.2	4.7	1.5	2.5
1 g/l	30	30	60.0	2.6	1.7	2.7	1.1	1.4
微粉ハイポネックス	0	30	90.0	5.7	4.5	4.9	1.6	2.4
3 g/l	30	30	83.3	3.5	3.0	4.0	1.1	1.9
1/2 MS	30	30	3.3	3.5	2.0	1.0	1.3	3.0

葉数は緑色の活動葉のみを、根数は 1 次根のみを測定。

表 4 発根誘導培地置床時のシュートの葉数が発根に及ぼす影響 (1 ヶ月後)

置床時葉数 (枚)	置床個体数	発根率 (%)	シュート長 (cm)	葉数 (枚)	根数 (本)	最大根長 (cm)	1 株当たりシュート数(本)
0	30	96.7	5.3	4.2	4.7	1.5	2.5
2	30	90.0	5.1	4.9	4.7	1.6	2.0
4	30	93.3	6.0	6.0	4.8	2.2	2.0

葉数は緑色の活動葉のみを、根数は 1 次根のみを測定。

表 5 発根誘導培地置床時のシュートの大きさが発根に及ぼす影響 (1 ヶ月後)

置床時シュート長 (cm)	置床個体数	発根率 (%)	シュート長 (cm)	葉数 (枚)	根数 (本)	最大根長 (cm)	1 株当たりシュート数(本)
1 cm	30	100.0	3.9	3.9	3.1	1.8	1.3
2 cm	30	100.0	4.7	4.0	5.0	1.9	2.3
3 cm	30	96.7	5.3	4.2	4.7	1.5	2.5

葉数は緑色の活動葉のみを、根数は 1 次根のみを測定。

4 ま と め

デルフィニウム (ベラドンナタイプ) の茎頂培養を利用して大量増殖方法を確立することができた。今後は変異の確認や、他品種への応用を検討する予定である。

引用文献

1) 天谷正行, 岡部陽一, 米内貞夫, 1992 デルフィニウム (*Delphinium elatum*) の組織培養による大量増殖. 栃木県農業試験研究報告 39: 43-52.