

デルフィニウム (*Delphinium elatum*) の 組織培養による大量増殖

天谷正行・岡部陽一・米内貞夫

I 緒 言

デルフィニウムはきんばうげ科に属する植物で、ピレネーから西アジアにかけての乾燥した冷涼地帯が原産地とされており、現在までに約200種が北半球において確認されている⁹⁾。わが国への導入は明治の初期といわれているが、その後積極的な育種が日本において行われた経緯は無く、現在栽培されている品種のほとんどは欧米諸国で育成されたものである。栽培種には宿根性のヒエンソウ (*Delphinium elatum*) と一年草のチドリソウ (*Delphinium ajacis*) があるが、一般的にデルフィニウムといえば前者を指し、生産量も商品価値も圧倒的に高い。主に青系の花色を持つデルフィニウムは、切花長も長いものでは2 m以上にもなり、近年の華やかな催し会場の飾り付け等には欠かせない花である。

しかし、デルフィニウムの栽培生産にはいくつかの問題があり、その普及に歯止めをかけている。中でも最も大きな問題は、日本で実生により栽培されている品種の全てが遺伝的に未固定なものであることである。花卉及び薬に茶色または黒色の色素を持った個体は、蜂が止まっているように見えることから bee と呼ばれているが、このような個体の商品価値は著しく低いものである。この形質は元々 *elatum* 種が持っていたものであるもので、実生増殖で集団を維持していく際に、他種の組み合わせによって出現してしまうものと考えられるが、生産歩留まりを低下させる大きな要因となっている。開花期間についても未固定であるため非常に幅があり、同一品種であるにも関わらず長いものでは3ケ

月にも及ぶ場合があり、計画的な生産に支障をきたしている。またパイプハウス等を利用して3~5月に開花させる現在の作型では、夏越しの育苗を行わなくてはならず、元来冷涼な気候を好むデルフィニウムには不都合なものとなっている。

これらの問題に対処し解決を図るためには、優良な開花品質を持つ個体を栄養増殖させる方法が有効であるが、圃場での株分けでは恐らく年間20倍程度の増殖しか見込めないため、実用的な新品種を作出することは不可能である。そこで、生物工学的手法を用いた組織培養による増殖法を検討することにした。これまでもデルフィニウムの培養が試みられた例はあるが、培養部位、培養条件、培地組成等に問題があり開花株からの大量増殖に成功した例は無い。今回筆者らは開花株の塊根部から採取した腋芽の生長点を用いた組織培養法及び増殖法を確立したので報告する¹⁾。

II 開花株組織からの組織培養法の検討

1. 目 的

開花形質の優れた個体を培養の材料とするため、開花株の組織を用いた培養方法について検討する。

2. 試験方法

1) 供試材料

デルフィニウム (*Delphinium elatum*) の品種ブルーバードの2番開花を終えた株を1989年の5月上旬に農試温室から選抜し、その塊根部から生えている小さな腋芽を材料とした(写真1)。

腋芽は1 cm以下の地下部のものを含めて1株から14本を採取できた。

2) 材料の調製

水道水で洗浄しながら余分な葉身部分を切除し、70%エタノールで10秒間の表面殺菌を行い、有効塩素0.5%の次亜塩素酸ナトリウムで搅はんしながら20分間の殺菌を行った。次に滅菌水を数回換え、塩素の臭いが無くなるまで洗浄し、無菌操作に供した。

3) 初代培養条件の検討

殺菌した試料から生長点及び数枚の葉原基を含む近傍組織を実体顕微鏡下で摘出し、MS培地⁷⁾を基本とした第1表の6種類の培地に置床し反応を観察した。初代培地の無機塩類組成はMS培地の KN_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 の濃度を1/3に減量したものを用い、ショ糖3%、ゲルライト0.3%を加えpH5.6に調製した。培地は試験管(φ25×100mm)に10mlを分注し、外植片を1個ずつ置床した。また、培養条件は20℃、2200Luxの12時間照明下で行った。

3. 結果及び考察

デルフィニウムの生長点は葉原基が周囲を囲むようにして露出しており、やや平たいドーム状であった(写真2)。また摘出した外植片の大きさは約0.4mmであった。これを第1表に示した6種類の培地に置床して培養を行ったところ、ベンジルアデニン(以下BA)の濃度が0.2ppm以上の培地では組織のカルス化が観察され、更に30日後にはA4培地から正常な植物体が再分化した(写真3)。そこでA4培地組成を初代培養培地とすることにした(第6表)。

Ⅲ 組織培養による増殖条件の検討

1. 目的

生長点由来の再分化植物体を増殖させるための条件を検討する。

2. 試験方法

1) 供試材料

Ⅱ章で用いた品種ブルーバードの選抜系統(以下BB)及び、1990年5月上旬に農試圃場で開花検定後に選抜した品種ブルースプリングスの系統(以下BS1、BS2の2系統)の無菌培養植物。初期の培養方法についてはⅡ-1を参照。

2) 増殖培養条件の検討

系統BBの生長点から再分化した植物体を再分化培地(第6表)に移植して40日間培養すると、植物組織の基部には塊根組織に相当するものが発達してくる。そこでこれを第2表の5種類の培地に移植し、20日毎に1個の腋芽を付けた外植片となるよう株分割し移植を行い、増殖した腋芽及び茎葉数の調査を行った。基本培地の無機塩類組成はMS培地の KN_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 の濃度を1/2に減量したものを用い、ショ糖3%、ゲルライト0.3%を加えpH5.6に調製した。培地は試験管(φ25×100mm)に10mlを分注し、外植片を1本ずつ置床した。培養条件は20℃、220Luxの12時間照明下で行った。更に増殖法検討試験で養成した培養菌を全てB4培地に移植し、株分割法による増殖を3回行った。培養条件は同一であったが、培地は200ml容のマヨネーズ瓶に40mlずつ分注し、1瓶あたり4本の外植片を置床して行った。

3) 分割条件と増殖率との関係について

系統BS1、BS2の無菌培養植物をB4培地に移植し、20日毎に株分割法による増殖を行った。その際、初回の分割のみ腋芽1本ずつになるように行い、その後の増殖の様子を観察した。分割3回以降は腋芽が2～3本ずつになるよう分割を行った。試験開始時の植物体数はBS1が52本、BS2が16本であった。培養条件は20℃、2200Luxの12時間照明下で行った。また、培地は200ml容のマヨネーズ瓶に40mlずつ分注し、1瓶あたり4本の外植片を置床して行った。

4) 培養温度と増殖率との関係について

系統BS1の無菌培養植物をB4培地に移植し、異なる温度条件下(10, 15, 20, 25℃)で培養を行

第1表 生長点培養における植調物質濃度の影響

培地名	基本培地	B A ppm	N A A ppm	カルス形地	植物再分化
A1	1/3MS	0.02	0	—	—
A2	〃	〃	0.02	—	—
A3	〃	0.2	0	+	—
A4	〃	〃	0.02	+	+
A5	〃	2.0	0	+	—
A6	〃	〃	0.02	++	—

注. 基本培地は KNO_3 , NH_4NO_3 , KH_2PO_4 の量のみを1/3に減量し, sucrose 3%, gellangum 0.3%を共通に加え, pH 5.6に調製した.

第2表 増殖培養の検討に使用した培地組成

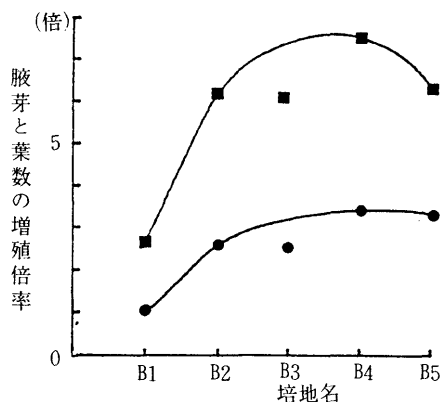
培地名	基本培地	B A ppm	suc %	gellangum %	pH
B1	1/2MS	0	3.0	3.0	5.6
B2	〃	0.5	〃	〃	〃
B3	〃	1.0	〃	〃	〃
B4	〃	2.0	〃	〃	〃
B5	〃	5.0	〃	〃	〃

注. 基本培地は KNO_3 , NH_4NO_3 , KH_2PO_4 の量のみを1/2に減量した.

い, 20毎に腋芽が1株あたり2~3本となるよう株分割し増殖率を調査した. また, 光条件は2200Luxの12時間照明とし, 培地は200ml容のマヨネーズ瓶に40mlずつ分注し, 1瓶あたり4本の外植片を置床して行った.

5) ポリビニルピロリドン及びクリプトモス添加が培地の黒褐色変化と増殖率に及ぼす影響について

株分割法により増殖培養する際に発生する, 培地への黒褐色の代謝物質を抑制するため, 従来増殖に用いてきたB4培地にクリプトモスあるいはポリビニルピロリドンを添加し, 移植40日に植物体の様子や培地の色の変化及び増殖率について調査を行った(第4表). 培養条件は20℃, 2200Luxの12時間照明とし, 培地は200ml容のマヨネーズ瓶に40mlずつ分注し, 1瓶あたり4本の外植片を置床して行った. 添加したクリプトモスは予め5×5mmの篩を通した粉末状のものをオートクレーブ滅菌(121℃, 20min)しておき, 培地1瓶あたり約0.5gを表面に均一



第1図 BA濃度が腋芽と葉の増殖に及ぼす影響

● 腋芽の増殖率
■ 葉身の増殖率

になるように敷いた. また, PVP (MW40,000はsigma社製)の濃度は500ppmであった.

3. 結果及び考察

1) 増殖培地及び増殖率について

デルフィニウムは代謝産物を盛んに分泌するため, 塊根部組織の周辺の色は10日後には黒褐色に変化し, 培養20日後には培地全体が黒色に変化した. この現象はBAの添加の有無に関わらず, 全ての培地で観察された. 20日毎に腋芽及び莖葉数を調査した結果, これらは添加したBAの濃度が高くなるにつれて増加する傾向を示したが, BAを2.0ppm含むB4培地においてその増加は頭打ちとなった(第1図). また, BA濃度が最も高いB5培地の区では塊根部の異常肥大化及び一部カルス化が起きており, 葉身には水浸症状が認められたことから, BA5.0ppmという濃

度はデルフィニウムの増殖には不適であると考えられた。これらの結果から、増殖培地にはB4培地を用い（第6表）、増殖は20日毎に株を分割移植して行うこととした。更に培養苗を全てB4培地に移植し、株分割法による増殖を3回行った試験結果を第3表に示した。但し、この時の分割は1株あたりの腋芽数を2本として行った。これは分割の際に、塊根組織をあまり小片化してしまうと株の活性が落ちる事が経験的にわかってきたからである。この結果、前培養がB3培地であったものだけはやや増殖率が低かったが、他の培地区のものには有意差は認められず、従って前培養の影響は無いものと考えられた。増殖率は初回は3.2倍であったが、以降は20日毎に2.3倍を示した（写真4、5）。

2) 分割条件と増殖率との関係について

分割条件と増殖率との関係について第2図に示した。初回の分割は一株当たりの腋芽を1本にしたため、一時的に株数は増加したが、2回目の時点ではほとんど増殖せず、分割は行えなかった。これは塊根組織をあまり小片化してしまうと株の活性が低下し、新しい芽が分化してくるまでに時間がかかるためと考えられた。先の系統BBを用いた増殖試験で経験的にわかっていたことを改めて裏付ける結果となった。また3回以降の分割は腋芽を2～3本付けた状態で行ったが、コンスタントに2.4倍程度の増殖を示した。これも先の系統BBでの数字に極めて近いもので、品種間での反応が同様である事を意味している。分割苗の数がBS1とBS2の間で大きく異なっているが、これは試験開始時の植物体数の違いが影響しているためで、系統間差異によるものではないと思われる。試験終了時の分割苗数はBS1が3814株でBS2が574株であり、それぞれ開始時から73倍と36倍であった。

3) 培養温度が増殖率に及ぼす影響について

培養温度と増殖率との関係について第3図に示した。この結果、安定して増殖培養が行えた

のは20℃であり、次いで15℃であった。10℃ではほとんど増殖せず、また25℃では葉色が淡くなるなど生理的な障害も観察されやはり不適であった。

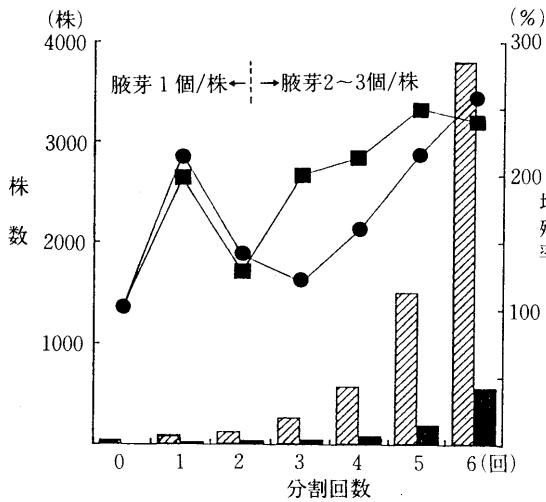
4) 培地の黒褐色変化と増殖率に対するクリ

プトモス及びPVP添加の影響について

クリプトモスの施用は発根を促進し、培地の褐変化を抑制した。しかしBS1の結果では増殖率は施用しない試験区に比べてやや低い数値であった。この結果はクリプトモスが培地と塊根組織の間に存在することで物理的に成分や植調物質の吸収を抑制したためか、あるいはクリプトモス中に含まれる何らかの成分の働きによるものと考えられるが明らかではない。また、ポリビニルピロリドンを追加した培地では褐変化はむしろ促進された。しかし無添加区の褐変化が茶色～黒色であったのに対し、紫色～濃茶色と明らかに質的な差が認められた。また、無添加区の褐変化は塊根部の周辺で局部的に起きていたのに対し、添加区ではこの褐変物質が速やかに培地全体に拡散した（写真6）。一般的にポリビニルピロリドンはポリフェノール類を高分子構造の中に組み込むことで酸化を防止する働きがあるといわれているが、今回の場合にもそのようなことが起きていると考えられた。これらの培地の変化は系統BS1、BS2に同様であった。

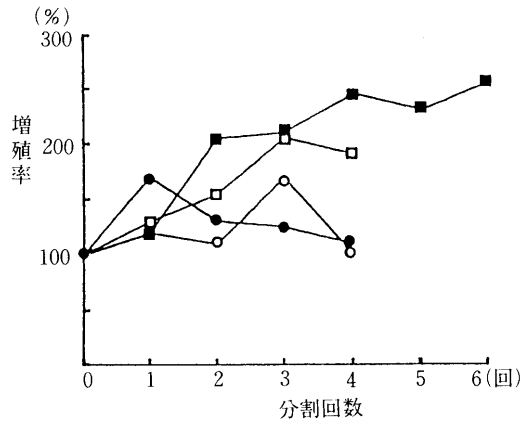
植物体への影響は、BS1ではポリビニルピロリドンを単独で基本増殖培地に添加した区では発根せず、葉の腿色程度も軽微であった。また増殖率については無添加区に比べ顕著な差は認められなかったが、植物体の活性を考えればポリビニルピロリドンの添加は長期間の培養には適していると考えられた。この条件では従来の分割サイクルが20日毎であったものを、増殖率を低下させることなく40日に延ばすことが可能であると考えられた（第4表）。

デルフィニウムの組織培養による大量増殖



第2図 株分割条件と増殖率との関係

BS1 増殖率の推移
 BS2 増殖率の推移
 BS1 株数の推移
 BS2 株数の推移



第3図 培養温度と増殖率との関係

○○10℃, □□15℃,
 ■■20℃, ●●25℃

第3表 株分割方式による腋芽の増殖率

培地名	前培養 培地	初期置床 株体数	第1回 分割数	増殖率 倍	第2回 分割数	増殖率 倍	第3回 分割数	増殖率 倍
B4	B2	8	26	3.3	65	2.5	151	2.3
〃	B3	6	14	2.3	34	2.4	57	1.7
〃	B4	9	32	3.6	66	2.1	158	2.4
〃	B5	7	23	3.3	50	2.2	120	2.4
total		30	95	3.2	215	2.3	486	2.3

第4表 クリプトモスとPVPが分割増殖中の植物体に及ぼす影響について

品種名	PVP	クリプトモス	供試株数	移植40日後 の発根株数	培地の変色程度	葉色の変色程度	生長点の 増殖倍率
BS1	+	+	40	16	+++	+	3.2
	+	-	40	0	+++	++	4.4
	-	+	40	25	+	+~++	3.7
	-	-	40	13	++	+	4.1
BS2	+	+	20	2	+++	+	
	+	-	20	0	+++	++	
	-	+	20	7	++	-	
	-	-	20	0	++	+	

注1. PVP: ポリビニルピロリドン (MW.40,000はsigma社製)

注2. 培地の褐変程度は、無色(-)~黒色(++++)の4段階評価として肉眼により観察した。

注3. 葉色の変化程度は、濃緑色(++++)~黄白色(-)の4段階評価を肉眼により観察した。

注4. BS2の生長点の増殖倍率は未調査

Ⅳ 増殖苗の発根条件の検討

1. 目的

株分割法によって増殖した植物体の発根条件を検討する。

2. 供試材料及び試験方法

株分割法によって増殖培養した系統B Bの培養苗を腋芽1本ずつに塊根組織ごとに分割し、第5表の4種類の培地に置床して40日後に発根の有無について調査した。調査は肉眼により、1mm程度の発根であっても確認されるものは発根株とした。基本培地の無機塩類組成はMS培地の KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 の濃度を1/2に減量したものを、ショ糖3%、ゲルライト0.3%を加えpH5.6に調製した。培地は200ml容のマヨネーズ瓶に40mlずつ分注し、1瓶あたり5本の外植片を置床した。培養条件は20℃、2200Luxの12時間照明下で行った。

第6表 デルフィニウムの培養培地

培地名	基本培地	B A ppm	NAA ppm	suc %	gellangum %	pH
初代培地 (A4)	1/3MS	0.2	0.02	3	0.3	5.6
再分化培地	1/2MS	—	—	〃	〃	〃
増殖培地 (B4)	1/2MS	2.0	—	〃	〃	〃
発根培地 (C1)	1/2MS	—	—	〃	〃	〃

注1. 基本培地は KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 のみを減量

注2. 再分化培地は発根培地と同一

注3. 増殖培地にはポリビニルピロリドン (MW40,000) を500ppm添加する場合もある

Ⅴ 総合考察

デルフィニウムの組織培養に関する報告は村崎ら⁶⁾が行った無菌播種由来の植物体を材料としたものがあるが、本報告は開花株を用いた組織培養法及び増殖法を確立したという点でユニークである。一方、国外での実状はどうかというと、既に栄養系品種が存在しており、苗の形で輸入されているものがあることから何らかの増殖法が確立されているものと思われるが、現

3. 結果及び考察

発根はほとんどが塊根部と茎葉の境界付近から観察された。また1株当たりの発根数はかなりばらついており、多いものでは9本もの根が観察された株もあった。NAAの濃度が0~0.2ppmの間にある培地では約半数の47%の株が発根しており、NAA無添加区と0.02及び0.2ppm添加区との間には有意差は認められなかった。これに対して、NAA 2.0ppmの培地では著しい発根率の低下が起きた。これらのことから発根培地にはC1培地を用いることにした (第6表)。

第5表 NAAの濃度が発根に及ぼす影響

培地名	基本培地	NAA ppm	置床数	発根数	発根率 %
C1	1/2MS	0	105	49	46.7
C2	〃	0.02	〃	50	47.6
C3	〃	0.2	〃	49	46.7
C4	〃	2.0	〃	9	8.6

注. 基本培地は KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 の量のみを1/2に減量し、共通にsuc 3%、ゲルライト0.25%を加えpH5.6に調製した。

時点では不明である。栃木県の生産現地でもプリンセスカロラインというピンク系の品種が導入されているところもあり、その特徴的な花色が人気を博している。しかし輸入ものであることと、希少な極良質品種であることから苗の価格もかなり高価で、国内産の優良な栄養系品種の作出に期待がかけられているところである。

一般的に外の材料を用いて組織培養を行う場合、花茎腋芽や蕾内の組織、葉身などを用いることが多いが、これらは大抵は地上部の組織で

ある。これは、地下組織を用いることがすなわち、雑菌汚染の危険性が高いという考えに結びつくからであるが、既に病原菌やあるいは共生菌などが組織内に侵入してしまっていない限り、材料の表面殺菌と生長点の摘出が完全に行われれば十分に使用が可能であることを今回の塊根部の腋芽を使用した試験は示している。

デルフィニウムの生長点はやがて花芽へと分化していくが、この様子を勝野⁴⁾が図示している。これによれば、筆者らが培養に供したのは栄養生長期の段階のものであった。また、別な試験から得られた結果では、既に花芽分化が始まっているような生長点は、たとえ培養を行ってもすぐに茎立ちし、培養瓶の中で開花してしまい増殖培養を行う事はできなかった。勝野は生長点肥大の時期が栄養生長から生殖生長への転換期ではないかと述べているが、実際の段階の生長点までが培養可能なのかはまだ明らかでない。ただ言える事は、まだ地上に出ていないような腋芽を材料に用いるなら、生長点のステージについては何等問題はないということである。

培養条件については、冷涼な気候を好むということを考慮して培養温度は20℃で統一して基礎試験を行ったが、増殖培養と温度条件との関係を調べた試験結果からも、20℃という条件はデルフィニウムにとっては適当なものであった。このようにたとえ人工栄養培地を用いた閉鎖的な環境にあっても、植物側の要求してくる生理的な条件は自然な場合と何等変わるものではなく、やはり目的の植物の栽培法を良く理解した上で組織培養を行う事が望ましいと反省させられた。培地については基本培地にMSを用い、特に窒素成分について標準組成よりも低い改変を行った。しかし筆者らのMS培地調製用の貯蔵液組成では KNO_3 、 NH_4NO_3 、 KH_2PO_4 が一緒になっており、不必要にリン酸成分についても減量をしてしまったため、必ずしも適当な改変であるの

か検討の余地が残っている。

株分割法による増殖では、20日間で2.4倍の効率で株を増殖することができるが、まだ満足のものではなく、更に効率のよい胚様体の利用などによる増殖方法を確立する必要があると考えている。ちなみに1年間の培養でどの程度の苗が得られるかを試算してみると、初代培養と発根誘導をそれぞれ1ヶ月、増殖期間には10ヶ月を当てるとして、10株の培養苗で増殖を開始すると20日毎に2.4倍として $10 \times 2.4^{15} = 4207144$ 本という数字になる。更に発根率を50%としても年間約210万本もの苗生産が可能であるが、実際には発根していない株も馴化が可能であるという結果も得られているので(未発表)、成苗率はこれを上回るものと考えている。培養苗を利用することで育苗期間の大幅な削減が見込まれ、さらには作型の変更も可能となり、本県のデルフィニウム生産に大きなメリットをもたらす事ができるものと期待する。

デルフィニウムが代謝する黒褐色物質は、カトレア^{2,3)}やファレノプシス⁵⁾で報告されているような致命的な培養植物への障害は引き起こさないようであるが、長期間の培養を困難にしていることは確かである。同じきんぼうげ科のトリカブトの組織培養でも同様の現象が報告されている。Robert⁸⁾らはこれらは非常に酸化されやすいフェノール性物質であると述べており、PVPを培地に添加することでその酸化を抑制している。筆者らの試験でも、PVPの添加で明らかにこの物質が質的に変化を受ける事が観察され、しかも植物体の活性を保ちながら培養できる期間を延ばす効果が確認された。また、小林ら⁵⁾はファレノプシスの組織培養においてクリプトモスを培地に施用することで黒変化を抑えており、クリプトモスが植物組織と培地の間に存在することで、代謝物の培地への移行が抑止されるためであると述べている。筆者らの試験でも明らかなように、クリプトモスの施用区で

は培地の色の変化は軽微であり、BA2.0ppmを含む培地であったにも関わらず発根が促進されており、ホルモンの作用を弱めるようなフィルター効果が働いたものと考えられた。このことは、発根がホルモンフリーの培地に移植するだけで比較的容易に起こるという試験結果からも明らかであり、やはり物理的な成分吸収の抑制効果が働いている可能性が高い。従って、増殖培養中にはクリプトモスの施用は望ましくなく、むしろ発根誘導時には有効ではないかと考えられた。

今後は様々な優良開花株について本法の適用を行い、栄養増殖系品種の作出を行っていく予定である。また、今回使用した系統については現在開花検定中であり、培養苗の有用性あるいは変異の問題などについて今後明らかにしていきたいと考えている。

VI 摘 要

デルフィニウム (*Delphinium elatum*) の開花株の塊根部腋芽を材料とした組織培養法及び増殖法を検討した。

1. 塊根部の生長点を培養し、無菌植物体を再分化させることができた。

2. 無菌植物体はBA2.0ppmを含む増殖培地で、株分割法により増殖が可能であり、20日毎に約2.4倍に増殖した。培養温度は20℃が適していた。培養中に代謝される黒褐色物質には、PVPの培地への添加が有効であり、分割継代期間を

20日から40日へと延ばせる可能性が示唆された。一方、クリプトモスの添加は、この黒褐色物質の分泌を抑制したが、同時に培地中のホルモンの作用も抑制した。

3. 増殖した植物はホルモンを除いた培地に移植することで、40日後には47%が発根した。

本研究を行うにあたり、農業試験場花き部並びに生物工学部の方々に有益な御助言を賜った。ここに記して厚く感謝の意を表する次第である。

引用文献

1. 天谷正行・岡部陽一・米内貞夫 (1991): 園学雑 60別1:454-455.
2. 市橋正一・加古舜治 (1977): 園学雑 46 (3):325-330.
3. 石井實 (1980): 園学雑 48(2):199-204.
4. 勝谷範敏 (1987): 農と園 42(9):149-150.
5. 小林光子・米内貞夫 (1990) 栃木農試研報 37:57-70.
6. 村崎公明・上田善弘・安藤敏夫 (1985): 園学要旨昭60春:368-369.
7. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. *Physiol Plant.*, 15:473-497.
8. Robert, C. 1987. *Hort Sci.* 22:304-305.
9. 塚本洋太郎 (監修). 花卉園芸大事典 (1884): 養賢堂:731-732.

**In vitro mass propagation of Delphinium
by tissue culture of flowering plants.**

Masayuki AMAGAI, Youichi OKABE, Sadao YONAI

Summary

Almost of Delphinium cultivars cultured in Japan were not pure-bred, and consequently it made difficult to uniform the flowering quality. So we try to establish the protocols of in vitro tissue culture and shoot proliferation by using flowering plants of *Delphinium elatum* cv. Bluebird and Bluesprings.

The apical meristem tissue was cut out from axillary buds of tuberous roots, and cultured on modified MS medium (KNO_3 , NH_4NO_3 and KH_2PO_4 were decreased to 1/3 of original concentration) supplemented with 0.2ppm BA, 0.02ppm NAA, 0.3% gellangum adjusted to pH5.6 Materials for experiment were incubated at 20°C under fluorescent light (approx. 2200lux) with a 12-hr photoperiod. The aseptical differentiation of plants occurred 30 days after the start of experiment.

These aseptical plants were transplanted to modified MS medium (KNO_3 , NH_4NO_3 and KH_2PO_4 were decreased to 1/2 of original concentration) supplemented with BA 2.0ppm and cultured under the same condition as those mentioned above. Shoots proliferated with progression of the growth of tuberous tissues. For the purpose of mass propagation, explants were dissected to small pieces with 2~3 shoots in every 20 days and subcultured on the fresh medium. When explants were transplanted to hormone free medium, rooting occurred in 47% of materials examined.

Field tests of the propagated plants are in progress.

[Bull. Tochigi Agr. Exp.
Stn. No.39 : 43~52 (1992)]



写真1 塊根部の腋芽の様子

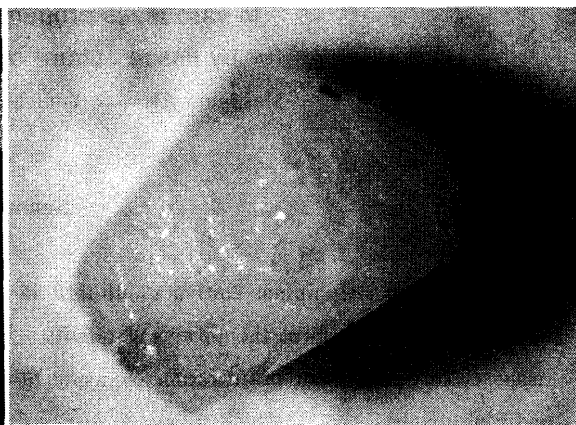


写真2 生長点近傍組織の様子

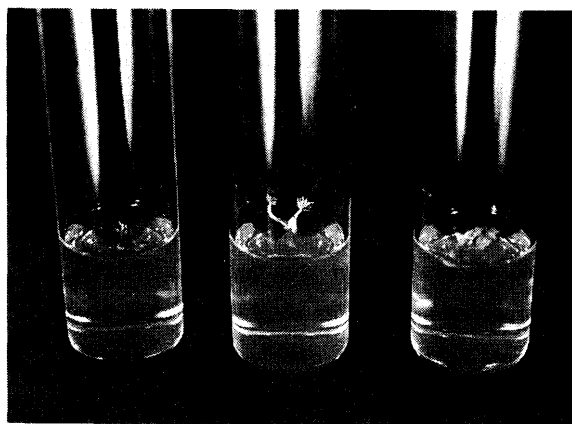


写真3 生長点から再分化した植物体の様子



写真4 株分割法により増殖中の様子

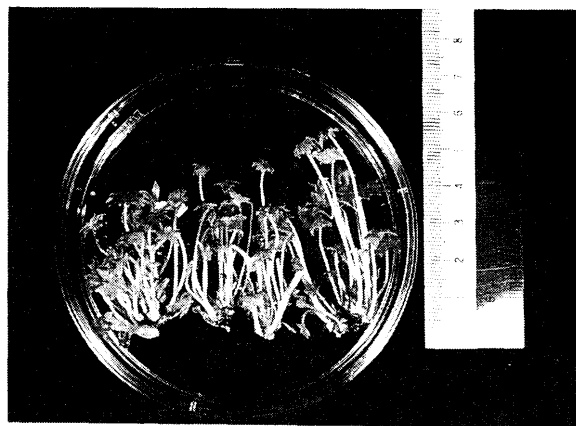


写真5 増殖培地で培養20日目の株の様子

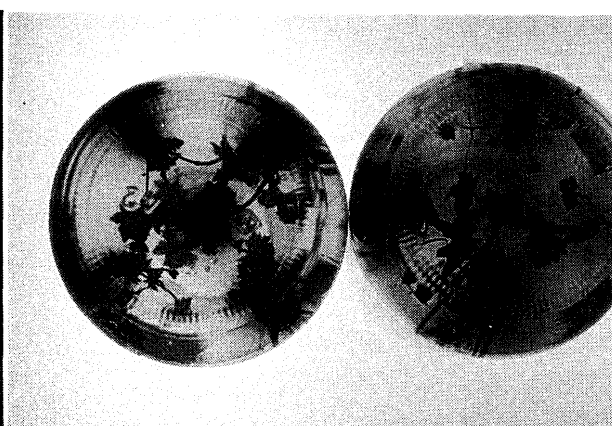


写真6 PVPの添加が黒褐色物質を拡散した様子 (左はコントロール)