

シクラメンの組織培養によるつぼみ内組織からの増殖

1. 試験のねらい

シクラメンを組織培養で増殖し、優良品種、系統のクローン苗を供給する技術を確認するのが目的である。シクラメンは全身に内生菌が生息するため、組織の表面殺菌を確実にしても培養が困難である。そこで菌の内生が及ばないとみられるつぼみを内組織を用いて、増殖法を検討した。

2. 試験方法

まず花柱組織を培養した。品種ショパンの開花株を用い、長さ8～15 mmのつぼみを殺菌後、花柱を摘出し表-1の5種の培地（基本組成は1/3 MS無機塩、MSビタミン、ショ糖3%、ゲルライト0.3%、pH 5.6、以下の試験は植物生長調節物質を除いて基本組成は全て同じ）を用いて25℃の暗黒下で培養した。第1培地を用いた培養で出芽した芽の葉柄部分を約3 mmに切断し、NAA 0.02、BA 0.2 mg/lの培地に置床した。第2回継代培養からは、芽を付けたまま2～3分割し、同じ培地に置床しこれを7代培養まで繰り返した。培養はすべて20℃の暗黒下で行った。

花柱の培養が可能なので、その他のつぼみ内組織の培養を検討した。品種リスト、シューベルト、ショパン、ヒュールパークの開花株を用い、長さ8～15 mmのつぼみを花柱培養と同じく殺菌後、花柱、子房、子房壁、葯基部、花弁、がくを摘出し（図-1参照）、NAA 0.1、BA 1.0 mg/lの培地に置床し、置床47日目と同じ培地に継代移植した。培養は25℃の暗黒下で行った。

3. 試験結果および考察

花柱の培養は第1培地（NAA 0.1、BA 1.0 mg/l）で出芽が多かった（表-1、写真-1）。出芽した芽の葉柄部分を分割し培養すると、基の部分が肥大し塊茎に類似した組織となった。初代培養では組織片の出芽率は14%と低いが、継代培養を繰り返すことにより出芽組織片数は多くなり7代培養では99%の組織で出芽し、平均出芽本数も13.1本と多かった。

その他の組織を含めたつぼみ内組織の培養における雑菌汚染率をみると花柱が9.8%と最も低く、次に葯基部（13.2%）、花弁（16.8%）、子房壁（18.9%）、子房（30.0%）の順に汚染率が高くなる。がくはすべて雑菌に汚染されており（表-3）、がく組織までは内生菌が生息しているものと考えられる。花柱組織からの試験で最も出芽組織の多かった培地であるNAA 0.1、BA 1.0 mg/lを用いたつぼみ内組織（花柱、子房壁、葯基部、花弁、子房）の培養では、葯基部での出芽が多く5品種平均で出芽組織片率55%、平均出芽本数1.4本であった。子房壁は35%、0.5本、花柱は26%、0.7本であった。品種で比較するとパッパは花柱、葯基部で出芽が多く、シューベルトは子房壁で多かった。品種により培養に適した組織が異なることを示し（表-4）、花弁及び子房ではまったく出芽しなかった。

4. 成果の要約

つぼみ内組織を培養し、花柱、葯、子房壁の組織から増殖できることを明らかにした。

（担当者 生物工学部 大橋一夫）

表-1 花柱の培養

培地 番号	植調物質濃度 (ng/l)			置床 数	肥大程度			出芽組 織片数 (%)	出芽 本数	平均 出芽 本数
	NAA	BA	adenin		5mm 以上	3~ 4.9mm	2.9mm 以下			
1	0.1	1.0	-	18	3	6	9	4(22)	11	0.6
2	0.1	1.0	100	19	14	2	3	3(16)	9	0.5
3	0.1	1.0	200	18	6	7	5	3(17)	6	0.3
4	0.1	1.0	400	15	1	4	10	0(0)	0	0
5	0.1	2.0	-	19	5	8	6	0(0)	0	0

注) 置床33日目調査

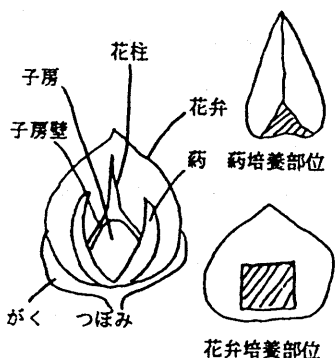


図-1 つぼみ組織培養部位

表-2 葉柄肥大部の分割培養での出芽

培養 回数	培養 日数	置床 数	出芽組織 片数(%)	平均出 芽本数
1	34	14	2(14)	0.4
2	31	31	12(39)	3.2
3	26	20	11(55)	4.7
4	29	40	30(75)	5.8
5	30	58	57(98)	12.4
6	21	120	112(93)	12.7
7	28	280	278(99)	13.1

注) 培地はNAA0.02, BA0.2ng/l

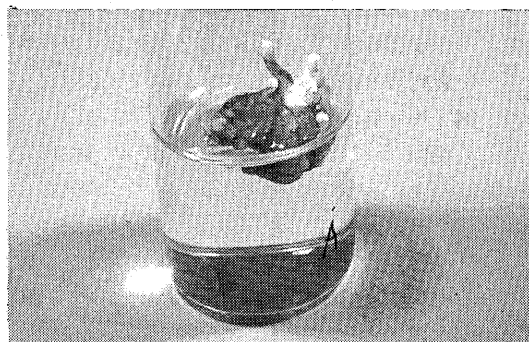


写真-1 花柱組織からの出芽

表-4 つぼみ組織の培養

組織 部位	品種	置床数	出芽数 (%)	出芽本数			平均出 芽本数	
				5mm以上	3~4mm	2mm以下		
花 柱	リスト	30	8(27)	0	6	6	12	0.4
	シューベルト	10	1(10)	0	0	4	4	0.4
	パッハ	12	6(50)	2	10	12	24	2.0
	ショパン	12	3(25)	1	2	4	7	0.6
	フュールパーク	10	1(10)	0	0	3	3	0.3
	計	74	19(26)	3	18	29	50	0.7
子 房 壁	リスト	50	26(52)	4	4	20	28	0.6
	シューベルト	17	10(59)	1	2	12	15	0.9
	パッハ	17	2(12)	0	2	1	3	0.2
	ショパン	19	3(16)	0	5	3	8	0.4
	フュールパーク	15	0(0)	0	0	0	0	0
	計	118	41(35)	5	13	36	54	0.5
葯 基 部	リスト	132	74(56)	7	70	118	195	1.5
	シューベルト	42	19(45)	0	7	26	33	0.8
	パッハ	51	39(76)	13	28	57	98	1.9
	ショパン	48	25(52)	2	11	27	40	0.8
	フュールパーク	42	15(36)	0	33	39	72	1.7
	計	315	172(55)	22	149	267	438	1.4

注) 置床後88日目調査, NAA0.1, BA1.0ng/lを用い, 47日目に同培地に移植

表-3 つぼみ組織培養での雑菌汚染率

組織 部位	供試数	雑菌汚染 数(%)
花柱	295	29(9.8)
子房壁	238	45(18.9)
葯	521	69(13.2)
花弁	250	42(16.8)
子房	100	30(30.0)
がく	50	50(100.0)