

うどの組織培養による大量増殖

1. 試験のねらい

現在、うどの増殖は株分けにより行っている。しかし、この方法では一つの種株から1年間で4～6株程度しか増殖できないため、規模拡大や優良系統への親株更新を難しくしている。そこで、組織培養を用いた大量増殖技術を確立する。

2. 試験方法

供試材料：黒磯分場で保存している、むらさき系統を用いた。

(1) 試験1：多芽体誘導系における最適培養部位と順化培地の検討

供試部位は越冬芽、腋芽、未展開葉を用い、70%エタノールで1分間、1%次亜塩素酸ナトリウム液で15分間殺菌後、基本培地（1/3MS、IBA0.2mg/l、ショ糖20g/l、ゲランガム3g/l pH5.7）に置床した。BA（ベンジルアデニン）濃度は、越冬芽で0.5と1.0mg/lの2水準とし、腋芽および未展開葉はBA濃度0.5mg/lの1水準とした。培養条件は、20℃、3600luxの日長12時間で行った。継代は20日ごとに行った。順化は、ショ糖を3%添加しホルモン剤を添加しないMS固形培地で発根させた培養苗を用い、20℃、日長20時間の恒温室で行った。順化培土は、クリプトモス、PG培土、くん炭：鹿沼土の3水準とした。

(2) 試験2：不定胚誘導のためのカルス形成培地の検討

供試部位は未展開葉を用い、70%エタノールで数秒間、0.5%次亜塩素酸ナトリウムで8分間殺菌後、4mm角の葉片を作成して培養に供した。基本培地として、MS培地のKNO₃、NH₄NO₃の成分を1/4にした改変MS培地およびN6培地を用いた。ショ糖濃度は、改変MS培地で7%と3%の2水準とし、N6培地で7%の1水準の合計3水準とした。各培地に2,4-D1.0mg/l、ゲランガム3g/lを添加し、pH5.7に調整した。培養条件は、28℃、日長12時間、3600luxで行った。1ヶ月後、増殖したカルスは葉片ごとホルモン剤を添加しないMS液体培地に移植し、30rpmで液体振とう培養を行った。培養条件は、25℃、日長12時間、3600luxで行った。

3. 試験結果および考察

(1) うど多芽体誘導系の増殖率は、越冬芽を供試部位として用いた場合、160日まではBA濃度0.5mg/lが1.0mg/lに比較して優れていた。240日間の培養では、BA濃度が1.0mg/lのとき約30倍の増殖率であり最も高かった。このため、培養開始初期160日までは、BA濃度は0.5mg/lで培養し、その後1.0mg/lに上げるによりさらに増殖率を上げることができると考えられた（表-1）。

順化培地は、PG培土の順化率が75%であり、クリプトモスの50%、くん炭：鹿沼土の65%に比較して最も高かった（図-1）。

(2) 不定胚は、ホルモン剤を添加しないMS液体培地にカルスを移植後2週間目からカルス上に観察された。改変MS培地のショ糖7%添加区は、38.4%のカルスから不定胚が観察され、N6区の13.3%、改変MS培地にショ糖3%添加区の18.2%に比較して優れていた。1カルスから単離される不定胚数は、改変MS培地にショ糖7%添加区で、最も多く4～75の不定胚が得られた。このことにより、うど不定胚の形成はカルスを誘導するときの培地組成の影響を受け、基本培地として改変MS培地を用い、ショ糖7%を添加することで効率的となった（表-2）。

4. 成果の要約

うどは越冬芽を用いた多芽体誘導法により240日間で約30倍に増殖することができる。また、不定胚は、未展開葉から改変MS培地にショ糖7%を添加した培地を用いてカルスを誘導し、それらをホルモン剤を添加しないMS液体培地で振とう培養することにより効率的に作出できる。

表-1 うどの供試部位と増殖率との関係

供試部位	BA濃度	置床数	増殖率(倍)					
			40日後	80	120	160	200	240
越冬芽	0.5	48	1.4	1.8	2.8	5.2	11.0	26.4
〃	1.0	46	1.0	1.3	1.7	3.7	10.2	29.4
腋芽	0.5	33	1.0	1.0	1.1	1.7	2.2	6.7
未展開葉	0.5	32	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

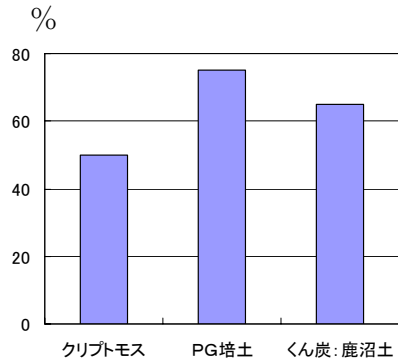


図-1 培地による順化率の違い

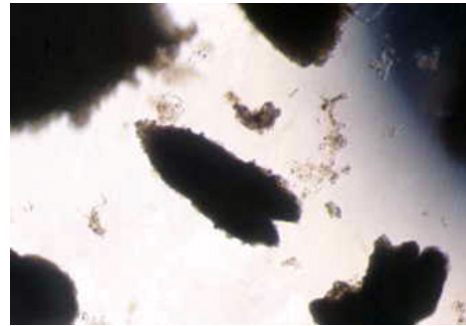


図-2 ハート型不定胚

表-2 不定胚形成とカルス誘導培地との関係

基本培地	シヨ糖濃度(%)	供試カルス数(個)	不定胚形成カルス数(%)	不定胚数/カルス
N 6	7	15	2(13.3)	1~2
改変MS	7	13	5(38.4)	4~7
改変MS	3	11	2(18.2)	1~1

注) 供試カルスは5mm以上

ホルモンフリーMS培地で培養30日後調査

不定胚数は、1カルス上に形成した不定胚の数をそれぞれ計測した