

斑入りブルーデージーの茎頂培養における斑の発現

山元義久*・塩飽邦子*

要 約

斑入りブルーデージーを材料として茎頂培養を試みた。

- 1 斑入りの再生個体も得られたが、斑が消失してしまう場合もあった。
- 2 ナフタレン酢酸 (以下, NAA という) を0.1mg/l 添加した培地で斑入りの再生個体が比較的効率よく得られ, ベンジルアミノプリン (以下, BAP という) を添加するとガラス化や枯死が激しかった。
- 3 斑入りの消失はカルス化した切片からの再分化によると推測される。

Appearance of Variegation in Shoot Apex Culture of Blue Daisy (*Felicia amelloides* Voss) with Variegated Leaf

Yoshihisa YAMAMOTO and Kuniko SHIWAKU

キーワード：茎頂培養, 斑入り, ブルーデージー

緒 言

茎頂培養によるウイルスフリー化は, カーネーションやイチゴなどの主要な品目から開発・実用化されてきたが^{2) 3)}, 近年は比較的マイナーな品目についてのウイルスフリー化が要望されるようになってきた。また, 茎頂培養や組織培養による大量増殖を受託する民間業者も現れてきている。

2003年に兵庫県花き協会鉢花・花壇用苗物部会が種苗増殖業者に斑入りブルーデージーの茎頂培養と増殖を依頼したところ, すべての個体で斑が消滅した。斑入り植物の茎頂培養に関する報告はわずかであり¹⁾, ブルーデージーに関しては皆無であった。そこで, キクやカーネーションなどの茎頂培養に用いられている培地を中心とした各種の培地によって茎頂培養を試み, 斑入りの状態を維持した茎頂培養が可能かを検討した。

材料及び方法

1 供試材料

当センター園芸部が保有し, 斑入り個体を選抜しながら挿し木繁殖を行って維持している斑入りのブルーデージーを供試した。斑は, 葉の外周が白色となる周縁キメラであった。培養には花芽が分化していない茎頂のみを用いた。

2 培地

茎頂培養に使用した培地の組成を表1に示す。以下, 本文中での培地の表記は表1に従って, ①培地～⑥培地と表す。

各培地はφ18mm 試験管に分注後アルミ箔でキャップをし, オートクレーブ (121℃, 1.2kg/cm²) で滅菌して使用した

3 茎頂培養

採集した茎の先端を約5cmに調整し, 数滴の界面活性剤を加えた次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (有効塩素濃度約1.2%) 中で10分間滅菌した。滅菌水で数回洗浄した後, 実体顕微鏡下で茎頂の摘出を行った。葉原基1～2枚とともに摘出した茎頂を培地上に置床して無菌的に培養し, 2か月後に結果を観察した。

結果及び考察

①, ③培地の一部と②培地のほとんどでは再生個体はガラス化し, 斑入りは判然としなかった。植物ホルモンとしてBAPを添加した培地で, ガラス化や枯死が著しい傾向が認められた。①, ③, ④, ⑥培地で斑入りの再生個体が見られ, 斑入り植物の茎頂培養が可能であることが示された。③, ④培地での成長速度はきわめて遅く, 培養開始から2か月後でも鉢上げを行うことができなかった。①培地でもやや遅かった。供試数が少ないものの, 今回供試した中では⑥培地で最も良好な結果が見られた。

2005年8月31日受理

*兵庫県立農林水産技術総合センター部長 (生物工学担当)

多くの高等植物の茎頂は3層構造をしているといわれている¹⁾。今回供試した斑入りブルーデージーは葉の外周が白色であることから、最外層が葉緑体を持っていない細胞で構成されていると考えられる。培地上に置床した茎頂切片がこの3層構造を維持したまま成長すれば、斑入りのままの再生個体が得られるはずであり、今回の試験でもそれらの個体が得られた。一方、茎頂切片がカルス化し、カルスからの再分化が起こった場合には、元来の3層構造がなくなり再分化が起こった部位の細胞の性質を持った個体が再生してくるため、斑が消失してしまうものと推測される。

以上のことから、斑入り植物であっても培地を選択することで茎頂培養が可能であることが明らかとなった。斑入りを維持した再生個体が得られる培地で培養した場合、成長が遅くなることもあるが、その際には、再生個体が得られた後、成長が早いあるいは発根しやすい培地に移植することで解決できると考えられる。

斑入りの要因は複数あるが、茎頂の層構造由来の斑入りは実生繁殖することによって斑が消失するため、増殖は挿し木等の栄養繁殖によることになる。そのため、ウイルス病に汚染された場合には茎頂培養が必要になり、今回の知見がそれらの対応の際の参考になると考えられる。

謝 辞

材料の提供などにご協力いただいた農業技術センター園芸部石川順也主任研究員、川本徹司主任技師に感謝いたします。

引用文献

- (1) 長谷川 嚙(1985)：東洋系シンビジウムの繁殖に関する研究(第3報) 斑入りシュランの茎頂培養苗における斑の発現：園学要旨. 昭60秋, 374-375
- (2) 小山佳彦(1990)：カーネーションの無病苗育成：バイオホルティ 2, 97-103
- (3) Murashige, T. and F.Skoog (1962)：A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures：Physiol. Plant. 15, 473-497
- (4) 柴田道夫 (1991)：キクの突然変異育種と組織培養の利用：バイオホルティ 4, 23-27
- (5) 庄子孝一(1990)：イチゴのウイルスフリー株作出：バイオホルティ 1, 103-108

表1 供試した茎頂培養用培地(11中の含量)

培地	基本栄養	植物ホルモン	糖類	ゲル化剤
①	1/2(多)MS	NAA 0.1 mg	シヨ糖 30g	寒天 9g
②	1/2(多)MS	NAA 0.1 mg + BAP 0.1 mg	シヨ糖 30g	寒天 9g
③	1/2(多)MS	KIN 0.05mg	シヨ糖 30g	寒天 9g
④	1/2(N)MS	NAA 0.05mg	シヨ糖 30g	寒天 9g
⑤	1/2(N)MS	BAP 0.05mg	シヨ糖 30g	ゲルライト 2.5g
⑥	Hye 3g	NAA 0.1 mg + GA 0.1 mg	シヨ糖 30g	寒天 9g

注1) 1/2(多)MSは、MS培地3)の多量要素(N, P, K, Ca, Mg)の濃度を1/2にしたもの

2) 1/2(N)MSは、MS培地のKNO₃とNH₄NO₃の濃度を1/2にしたもの

3) Hyeは、ハイポネックス(6.5-6-19)

表2 斑入りブルーデージーの茎頂培養結果

培地	供試数	結 果				備考
		斑入り	斑消滅	ガラス化	枯死	
①	7	4	0	1	2	
②	7	0	0	6	1	多芽体化
③	7	4	0	2	1	成長遅い
④	5	2	0	0	3	成長遅い
⑤	3	0	0	0	3	
⑥	3	2	1	0	0	

注1) 各培地の組成は表1参照

2) ガラス化: 培養中に茎や葉の組織が水浸状になる現象

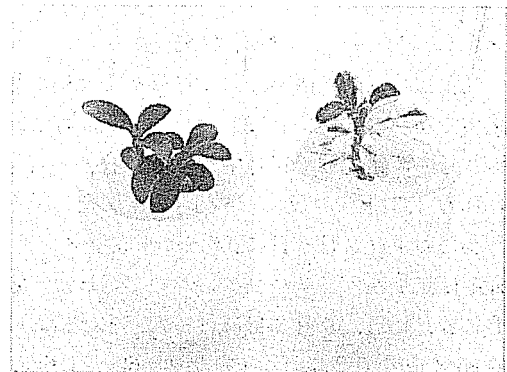


図1 斑入りブルーデージーの茎頂培養
(左: 斑が消失, 右: 斑入り再生個体)