

事項	シネンシス系デルフィニウムの組織培養による大量増殖法																																																																					
ねらい	シネンシス系デルフィニウムは近年需要が伸びている新しい品目であるが、栄養繁殖による増殖法が確立されていなかったため、優良個体を選抜しても増殖することが困難であった。そこで組織培養による増殖法について検討したところ、一連の手法が確立できたので参考に供する。																																																																					
指導参考内容	<p>1 培養方法</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>(手順)</th> <th>(方法)</th> <th>(期間)</th> <th>(効率)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>初代培養</td> <td>生長点を、葉原基3～4枚つけた状態で摘出し置床</td> <td>8週間</td> <td>再生率 90%</td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>増殖培養</td> <td>葉をすべて切除し、シュート数が2本程度となるように分割して継代</td> <td>4週間ごとに継代</td> <td>増殖率 2.3～2.8倍</td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>発根培養</td> <td>葉をすべて切除し、シュート数を1本に調製して置床</td> <td>6週間</td> <td>発根率 90%</td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>順化</td> <td>育苗用土に移植し、徐々に外環境にならす</td> <td>4週間</td> <td>順化率 100%</td> </tr> <tr> <td>↓</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>成苗</td> <td colspan="4">(注) 培養条件：20℃、60 μmol m⁻²s⁻¹、16時間明期</td> </tr> </tbody> </table> <p>2 培地組成</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>培地名</th> <th>基本培地</th> <th>BA (mg/ℓ)</th> <th>ショ糖 (g/ℓ)</th> <th>PVP (mg/ℓ)</th> <th>固化剤</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>初代培地</td> <td>MS (NH₄NO₃なし)</td> <td>0.02</td> <td>15</td> <td>500</td> <td>ゲルライト 6g/ℓ</td> </tr> <tr> <td>増殖培地</td> <td>MS</td> <td>0.5</td> <td>15</td> <td>500</td> <td>ゲルライト 3g/ℓ</td> </tr> <tr> <td>発根培地</td> <td>微粉ハイポネックス1g/ℓ</td> <td>-</td> <td>3</td> <td>-</td> <td>寒天 8g/ℓ</td> </tr> </tbody> </table> <p>(注) MS：ムランゲスクーグ培地 BA：ベンジルアミノプリン PVP：ポリビニルピロリドン</p> <p>3 増殖効率</p> <p>理論的には、約600～3,000倍の増殖が可能である。</p> $1 \text{ (生長点)} \times 0.9 \text{ (再生率)} \times (2.3 \sim 2.8)^8 \text{ (増殖率の8乗)} \\ \times 0.9 \text{ (発根率)} \times 1.0 \text{ (順化率)} = 634 \sim 3,060$					(手順)	(方法)	(期間)	(効率)	初代培養	生長点を、葉原基3～4枚つけた状態で摘出し置床	8週間	再生率 90%	↓				増殖培養	葉をすべて切除し、シュート数が2本程度となるように分割して継代	4週間ごとに継代	増殖率 2.3～2.8倍	↓				発根培養	葉をすべて切除し、シュート数を1本に調製して置床	6週間	発根率 90%	↓				順化	育苗用土に移植し、徐々に外環境にならす	4週間	順化率 100%	↓				成苗	(注) 培養条件：20℃、60 μmol m ⁻² s ⁻¹ 、16時間明期				培地名	基本培地	BA (mg/ℓ)	ショ糖 (g/ℓ)	PVP (mg/ℓ)	固化剤	初代培地	MS (NH ₄ NO ₃ なし)	0.02	15	500	ゲルライト 6g/ℓ	増殖培地	MS	0.5	15	500	ゲルライト 3g/ℓ	発根培地	微粉ハイポネックス1g/ℓ	-	3	-	寒天 8g/ℓ
(手順)	(方法)	(期間)	(効率)																																																																			
初代培養	生長点を、葉原基3～4枚つけた状態で摘出し置床	8週間	再生率 90%																																																																			
↓																																																																						
増殖培養	葉をすべて切除し、シュート数が2本程度となるように分割して継代	4週間ごとに継代	増殖率 2.3～2.8倍																																																																			
↓																																																																						
発根培養	葉をすべて切除し、シュート数を1本に調製して置床	6週間	発根率 90%																																																																			
↓																																																																						
順化	育苗用土に移植し、徐々に外環境にならす	4週間	順化率 100%																																																																			
↓																																																																						
成苗	(注) 培養条件：20℃、60 μmol m ⁻² s ⁻¹ 、16時間明期																																																																					
培地名	基本培地	BA (mg/ℓ)	ショ糖 (g/ℓ)	PVP (mg/ℓ)	固化剤																																																																	
初代培地	MS (NH ₄ NO ₃ なし)	0.02	15	500	ゲルライト 6g/ℓ																																																																	
増殖培地	MS	0.5	15	500	ゲルライト 3g/ℓ																																																																	
発根培地	微粉ハイポネックス1g/ℓ	-	3	-	寒天 8g/ℓ																																																																	
期待される効果	優良個体を材料としたクローン増殖による新規系統の育成が容易になる。																																																																					
普及上の注意事項	本法は「ハイランドブルー」及び「マリンプルー」を材料に用いて開発した増殖法であるため、他の品種を増殖する場合には増殖効率等が変化することが予想される。																																																																					
担当	青森県農林総合研究センターフラワーセンター21あおもり	栽培開発部	対象地域	県下全域																																																																		
発表文献等	平成14～16年度 フラワーセンター21あおもり試験成績概要集																																																																					

【根拠となった主要な試験結果】

表1 初代培養培地¹の窒素成分がシュート再生に及ぼす影響 (平成15年 青森農林総研フラワーセ)

基本塩基組成	シュートの状態(%)				シュート長 ³ (mm)	葉数 ³ (枚)	発根率 ³ (%)
	正常再生	水浸状化	生育不良 ²	枯死 ²			
MS(1/3 NH ₄ NO ₃ , KNO ₃)	58.6	25.7	12.9	2.9	11.2	1.4	36.6
MS(-NH ₄ NO ₃)	93.3	3.3	3.3	0	12.8	1.8	64.3

- (注)1 PVP 500mg/ℓ、シヨ糖15g/ℓ、ゲルライト3g/ℓ、pH 5.6とした
 2 生育不良:シュートの伸長なし、生長点は緑色
 枯死:シュートの伸長なし、生長点褐変
 3 正常再生シュートのみ調査

表2 初代培養培地¹における固化剤とホルモンの影響 (平成15年 青森農林総研フラワーセ)

固化剤 (g/ℓ)	添加ホルモン (mg/ℓ)	シュートの状態(%)				シュート長 ³ (mm)	葉数 ³ (枚)	発根率 ³ (%)
		正常再生	水浸状化	生育不良 ²	枯死 ²			
ゲルライト 6	なし	55	0	0	45	4.4	1	18.2
	BA 0.02	100	0	0	0	5.3	1.2	5
	NAA 0.02	95	0	0	5	6.8	1.4	73.7
寒天 12	なし	85	0	0	15	3.7	1	0
	BA 0.02	95	0	0	5	6.3	1.2	10.5
	NAA 0.02	75	15	0	10	5.7	1.3	86.7

- (注)1 MS(-NH₄NO₃)、PVP 500mg/ℓ、シヨ糖15g/ℓ、pH 5.6とした
 2 生育不良:シュートの伸長なし、生長点は緑色
 枯死:シュートの伸長なし、生長点褐変
 3 正常再生シュートのみ調査

表3 増殖培地¹に添加するBA濃度が増殖率及び生育に及ぼす影響 (平成15年 青森農林総研フラワーセ)

BA濃度 (mg/ℓ)	増殖率 (倍)	増殖株数 ²	シュート長 (mm)
0.05	2.00	32	24.4
0.1	2.29	63	29.0
0.2	2.24	56	27.2
0.5	2.57	112	26.7
1	2.60	119	24.6
2	2.59	117	23.2

- (注)1 MS、PVP 500mg/ℓ、シヨ糖15g/ℓ、ゲルライト3g/ℓ、pH 5.6とした
 2 増殖株数:1シュートを平均増殖率で5回継代した場合の推定値

表4 増殖培地¹に添加する糖の種類が増殖率に及ぼす影響 (平成15年 青森農林総研フラワーセ)

糖類	増殖率 (倍)	増殖株数 ²	シュート長 (mm)
マンニトール	2.20	51	27.8
ブドウ糖	2.43	84	29.7
果糖	2.50	97	30.0
麦芽糖	1.97	30	28.0
シヨ糖	2.35	71	28.1

- (注)1 MS、PVP 500mg/ℓ、BA0.5mg/ℓ、糖類50mM、ゲルライト3g/ℓ、pH 5.6とした
 2 増殖株数:1シュートを平均増殖率で5回継代した場合の推定値

表5 増殖培地¹の基本塩基組成が増殖及び生育に及ぼす影響 (平成16年 青森農林総研フラワーセ)

基本塩基組成	増殖率 (倍±SE)	増殖株数 ²	シュート長 (mm)
MS	2.81±0.29	101~283	29.6±1.0
MS(-NH ₄ NO ₃)	1.88±0.20	13~ 23	31.0±1.1
B5	1.83±0.05	18~ 20	12.9±0.5
Hyponex 2g/ℓ	2.28±0.14	44~ 82	31.0±1.3
Hyponex 3g/ℓ	2.59±0.13	89~148	29.5±1.2

- (注)1 PVP 500mg/ℓ、BA0.5mg/ℓ、シヨ糖15g/ℓ、ゲルライト3g/ℓ、pH 5.6とした
 2 増殖株数:1シュートを平均増殖率で5回継代した場合の推定値

表6 発根培地¹に添加するシヨ糖濃度が発根に及ぼす影響 (平成14年 フラワーセあおもり)

シヨ糖濃度 (g/ℓ)	発根率 (%)	根数 (本)	最大根長 (mm)
0	97	5.1	14
1	97	5.8	22
3	100	5.7	25
10	98	5.6	25
30	91	4.5	17

- (注) 微粉ハイポネックス1g/ℓ、寒天8g/ℓ、pH 5.6とした