

組織培養を用いたサルトリイバラの増殖方法

遠藤貴裕・前田英博

Takahiro ENDO and Hidehiro MAETA

Propagation method of *Smilax china* using tissue culture

I 緒 言

サルトリイバラ (*Smilax china*) は、ユリ科シオデ属に属し、北海道から九州、朝鮮半島、中国などの山野に広く分布する雌雄異株の落葉つる性低木である。高単価で取引されることから、果樹・花き類の複合経営において有用な品目である。しかし、効率的な増殖手法が開発されておらず、専ら山採りによって出荷しているのが現状である。そのため、サルトリイバラの栽培試験の実施と産地化を図るためには、自生株から優良系統を選抜し、苗を大量増殖する手法が重要である。

サルトリイバラは挿し木や接ぎ木が困難で、これまでに増殖法は確立されていない。同属の多年性植物であるシオデについては、これまでに組織培養による大量増殖の報告事例がある。黒田・川村(1994)が開発した連続多芽体培養法は効率的、簡易的な種苗増殖法であり、一連の培養法はサルトリイバラにおいても応用できると考えられる。

そこで、本研究では野生系統の腋芽より生長点を摘出し、増殖、多芽体形成、発根させるための培養条件について、主に植物ホルモンの種類と濃度を中心に検討を行い、増殖法を体系化したのでその結果を報告する。

II 材料および方法

2009年～2011年の3か年、鳥取県園芸試験場生物工学研究室内の培養室で、試験場内および鳥取市気高町に自生する野生系統を用いて生長点培養、増殖培養、発根培養の試験を行った。

1. 生長点培養条件の検討 (試験1)

2009年3月から4月にかけて、野生系統11株の枝を採取し、節ごとに3cmの長さに切断した。枝片から芽を覆っている表皮を1枚取り除き、

培養しやすい大きさ・形に調製した枝片を70%エタノールに30秒間浸漬した。次に、1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液に10分間入れて攪拌し、滅菌水で3回洗浄した後、生長点を摘出し、培地に置床した。

培地はMS培地 (Murashige and Skoog, 1962) の多量要素を1/2に減量した培地 (1/2 Macro-MS) を基本成分とし、ショ糖30g/L、寒天8g/Lを加え、pH5.7に調整した (以下A培地とする)。ベンジルアミノプリン (BAP) とナフタレン酢酸 (NAA) を添加し、濃度はBAPが0.25、0.5、1.0 mg/Lの3水準、NAAが0.025、0.05mg/Lの2水準を組み合わせ、合計6区設定した。

培養は、25°Cの1日14時間照明下で行い、2か月後に生存率とシュート形成率を調査した。

2. 枝の採取時期の検討 (試験2)

野生系統1系統の枝を3月と6月に採取、生長点培養を行い、2か月後の生存率とシュート形成率を比較検討した。培養法は試験1と同様に行った。

3. 増殖培養条件の検討 (試験3)

生長点培養を行い育成した野生系統‘No.1’のシュートを増殖させるため、継代培養の培地の植物ホルモン濃度を検討した。A培地を用いて、添加する植物ホルモン濃度はBAPが0.25、0.5、1.0 mg/Lの3水準、NAAが0.025、0.05mg/Lの2水準として合計6区の組み合わせ区を設定した。培養条件は25°Cの1日14時間照明下で行い、1か月ごとに増殖率を調査した。

次に、生長点培養を行い増殖、育成した野生系統‘No.2’と野生系統‘No.3’のシュートを用いて、増殖率の系統間差を検討した。試験区は、主に野生系統‘No.1’で増殖率の高かったBAPとNAA濃度の組み合わせおよびシュートの増殖率向上を目的にチジアズロン (TDZ) 1.0mg/LとNAA

0.1mg/Lの組合わせで、合計5区を設定した。

4. 発根培養条件の検討（試験4）

増殖した野生系統シュートの発根条件を検討した。7日間暗黒下でA培地を用い、添加する植物ホルモン濃度はNAA 2.0 mg/Lおよび20.0mg/Lの2水準を設定した。培養後、ホルモンフリーのA培地に移植し、1日14時間照明下で1か月ごとに継代した。培養条件は25°Cで行い、3ヵ月後に生存率、発根率を調査した。

次に、育成した野生系統‘No.1’多芽体の発根条件を検討した。シュートと同様の条件、方法で試験を行い、4ヵ月後に生存率、発根率を調査した。

さらに、増殖した野生系統‘No.2’‘No.3’の多芽体を用いて、発根率の系統間差を検討した。野生系統‘No.1’と同様の方法で行い、培地のNAA濃度は20.0mg/L区のみとし、4ヵ月後の生存率、発根率を調査した。

III 結果および考察

1. 生長点培養条件の検討（試験1）

野生系統の腋芽からのシュート形成はいずれの試験区でも認められた。植物ホルモン濃度はBAP 0.25mg/Lあるいは0.5mg/LとNAA 0.05mg/Lの組合わせ区でいずれも2ヵ月後の生存率は91.3%、シュート形成率が82.6%と最も

高く（第1表）、生長点培養の培地の植物ホルモン濃度に適していると考えられた。

2. 枝の採取時期の検討（試験2）

野生系統を用いて生長点培養を3月と6月に実施した結果、培養2ヵ月後の生存率は3月が92.9%、6月が55.0%、シュート形成率はそれぞれ28.6%、17.5%であった（第2表）。枝の採取時期については少なくとも6月より3月のほうが適していた。シオデの培養による大量増殖法では供試材料に冬芽を用いていることから（黒田・川村、1994）、枝の採取時期をさらに早めるとシュート形成率が向上する可能性も考えられる。

3. 増殖培養条件の検討（試験3）

野生系統‘No.1’のシュートを増殖するための植物ホルモン濃度は、BAP 1.0mg/LとNAA 0.05mg/Lの組み合わせ区で培養1ヵ月ごとの増殖率の平均が2.4倍と、他の試験区と比較して最も増殖が良かった（第3表）。

シュートを増殖させる植物ホルモン濃度は系統によって異なり、野生系統‘No.2’は、BAP 1.0mg/LとNAA 0.1mg/Lの組み合わせ、野生系統‘No.3’は、TDZ 1.0mg/LとNAA 0.1mg/Lの組み合わせで増殖率はそれぞれ2.3倍、1.8倍と高かった（第4表）。

また、BAPを処理した区では、芽条の節間が伸長する傾向があったのに対して、TDZを処理した区では、多芽体状に生育している芽条が多く

第1表 生長点培養におけるBAPとNAAの添加効果²⁾

濃 度		置床数	生存数	生存率 (%)	シュート 形成数	シュート 形成率 (%)
BAP (mg/L)	NAA (mg/L)					
0.25	0.025	24	19	79.2	17	70.8
0.5	0.025	23	19	82.6	19	73.9
1.0	0.025	21	16	76.2	14	66.7
0.25	0.05	23	21	91.3	19	82.6
0.5	0.05	23	21	91.3	19	82.6
1.0	0.05	23	21	91.3	17	73.9

2) 培養2ヵ月後の調査結果。野生系統11株を供試した。

第2表 枝の採取時期が生長点培養におけるシュート形成率に及ぼす影響²⁾

サンプリング 時期	置床数	生存数	生存率	シュート 形成数	シュート 形成率 (%)
3月 (2010年)	28	26	92.9	8	28.6
6月 (2009年)	40	22	55.0	7	17.5

2) 培養2ヵ月後の調査結果。野生系統1系統を供試した。

見られた (写真1)。

4. 発根培養条件の検討 (試験4)

野生系統のシュートを用いた発根培養条件は、培養3ヵ月後の生存率で見ると、添加する植物ホルモン濃度は、NAA 2.0mg/L区が45.5%とNAA 20.0mg/L区の5.6%よりも高かったが、発根率はいずれの試験区も10%未満と低率であった (第5表)。発根個体の中にカルスを形成、発根している個体が見られたことから、供試材料に多芽体を用いれば、発根率が向上すると考えられた。

そこで、供試材料に野生系統の多芽体を用いて、シュートと同様の方法で期間を延長して培養した結果、培養4ヵ月後の生存率は、NAA 2.0mg/L区と20.0mg/L区のいずれも80%以上を示し、発根率はそれぞれ11.5%、30.0%と向上した (第6表)。発根培養条件は、供試材料にシュートよりも多芽体を用いた方が生存率、発根率いずれも高いことがわかり、また供試材料に必要な多芽体を育成するのに、TDZを用いて培養する手法が利用できると考えられた。

発根率が高かったNAA 20.0mg/L区で、供試材料に野生系統‘No.2’‘No.3’の多芽体を用いて培養した結果、培養4ヵ月後の生存率は、‘No.2’が100.0%、‘No.3’が75.8%で、発根率は、それぞれ96.7%、57.6%であった (第7表)。地上部の生育および発根状態は、‘No.3’よりも‘No.2’の方が良好であった (写真2)。いずれも‘No.1’より発根率は高かったものの、系統間に差が認められた。

以上のように、本研究で組織培養によって、サ

第3表 BAPとNAA添加がシュートの増殖率に及ぼす影響^{Z)}

濃 度		置床数	増殖芽条数	増殖率 ^{Y)}
BAP (mg/L)	NAA (mg/L)			
0.25	0.025	6	49	2.2
0.5	0.025	6	41	2.1
1.0	0.025	6	20	1.5
0.25	0.05	6	29	1.8
0.5	0.05	6	15	1.4
1.0	0.05	6	68	2.4

Z) 培養3ヵ月後の調査結果。野生系統No.1を供試した。

Y) 数値は1ヵ月ごとの増殖倍率を平均した。

表4表 シュートの増殖率における系統間差^{Z)}

濃 度			増殖率 ^{Y)}	
BAP (mg/L)	TDZ (mg/L)	NAA (mg/L)	No.2系統	No.3系統
0.25	—	0.025	1.6	1.3
0.5	—	0.025	1.7	1.6
1.0	—	0.05	2.0	1.5
1.0	—	0.1	2.3	1.6
—	1.0	0.1	1.9	1.8

Z) 培養3ヵ月後の調査結果。

Y) 数値は1ヵ月ごとの増殖倍率を平均した。



写真1 サルトリイバラ培養芽条の生育状況

第5表 NAA添加がシュートの発根率に及ぼす影響^{Z)}

NAA濃度 (mg/L)	供試芽条数	生存芽条数	生存率 (%)	発根芽条数	発根率 (%)
2.0	33	15	45.5	2	6.1
20.0	36	2	5.6	2	5.6

Z) 培養3ヵ月後の調査結果。野生系統1系統を供試した。

第6表 NAA添加が多芽体の発根率に及ぼす影響^{Z)}

NAA濃度 (mg/L)	供試多芽体数	増殖多芽体数	生存多芽体数	生存率 (%)	発根多芽体数	発根率 (%)
2.0	18	8	22	84.6	3	11.5
20.0	17	3	16	80.0	6	30.0

Z) 培養4ヵ月後の調査結果。野生系統1系統を供試した。

第7表 多芽体の発根率における系統間差²⁾

系統名	供試 多芽体数	増殖 多芽体数	生存 多芽体数	生存率 (%)	発根 多芽体数	発根率 (%)
No. 2	28	2	30	100.0	29	96.7
No. 3	28	5	25	75.8	19	57.6

Z)培養4カ月後の調査結果。培地のNAA濃度は20.0mg/L。



写真2 野生系統‘No.2’(左側)と‘No.3’(右側)の発根個体

ルトリイバラの増殖体系を確立した。生長点培養から増殖、発根に至るまでの期間は約2年間必要であるが、これまでできなかった苗の増殖が可能となった。しかし、増殖率、発根率のいずれも系統間に差が認められるため、さらに高める手法を考慮する余地がある。また、発根個体の順化、育苗も現在検討中であり、現場で普及させるための課題と考えられる。本増殖法は、サルトリイバラでの第一歩であり、今後新たな栄養繁殖法が必要であると考えられる。



写真3 サルトリイバラ栽培試験の様子

IV 摘 要

サルトリイバラを効率的に増殖するための培養条件を明らかにした。

1 生長点培養の培地に添加する植物ホルモンの種類と濃度は、BAP 0.25mg/LあるいはBAP 0.5mg/LとNAA 0.05mg/Lの組み合わせが適当であり、枝の採取時期は6月よりも3月のほうがシュート形成率は高かった。

2 増殖培養の培地に添加する植物ホルモンの種類と濃度は、野生系統No.1がBAP 1.0mg/LとNAA 0.05mg/L、野生系統No.2がBAP 1.0mg/LとNAA 0.1mg/L、野生系統No.3がTDZ 1.0mg/LとNAA 0.1mg/Lの組み合わせで最も増殖率が高く、系統間差があった。

3 発根培養条件は、供試材料にシュートよりも多芽体を用いた方が発根率は高く、7日間暗黒下

でNAA濃度が20.0mg/Lの培地で培養し、その後ホルモンフリー培地に移植、継代する手法が有効であった。

引用文献

- 黒田 秧・川村泰史. 1994. 連続多芽体培養によるシオゲの大量増殖. 四国農試報. 58: 69 - 83.
- Murasige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture *Physiol. Plant.* 15: 473 - 497.