

氏名	ふるや ひろし 古谷 博
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	甲第382号
学位授与年月日	平成17年 9月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	組織培養による山菜・観賞用野草の大量増殖と簡易育苗システムの開発 一タラノキ、アシタバ、セリ、サクラソウを例にして— (Development of Nursery Plant Production System by Tissue in Wild Edible Plants and a Wild Ornamental Plant Japanese angelica tree (<i>Aralia elata</i>), Ashitaba (<i>Angerica keiskei</i>), Seri (<i>Oenanthe javanica</i>) and Primrose (<i>Primula seiboldii</i>))
学位論文審査委員	(主査) 細木高志 (副査) 太田勝巳 執行正義 板村裕之 田邊賢二

学位論文の内容の要旨

本研究は、山菜・山野草類を対象として、組織培養による簡易な種苗増殖技術を開発し、中国地方の中山間や瀬戸内島嶼部地域の活性化に役立てるために計画したものである。すなわち、組織培養手法の簡易化・安定化・低コスト化を図るために *in vitro* 培養体根組織培養による大量増殖と簡易育苗システムの開発について検討した。

1. タラノキの根組織培養による種苗生産技術の確立

1-1. 培養体由来根組織からの不定芽、不定胚形成および植物体再生

根組織切片を外植体として 2,4-D を添加した MS 培地に置床し、25℃、暗黒下で 30 日間培養し、形成したカルスを 2,4-D フリー培地に移植して継代培養した。外植体からのカルス形成は、2,4-D を 0.05mg/l 以上添加した区で 80%以上、カルスからの不定胚形成は 0.5mg/l 以上添加した区で 45~100%認められた。また、高率に不定胚を誘導するためには、外植体の 2,4-D 添加培地での培養期間は 25 日間以上必要であった。形成したカルスは、2,4-D フリー培地に移植して 20~30 日間で継代培養を行うと、不定芽および不定胚が形成され、多数の再生植物が得られた。

1-2. 培養体の *in vitro* 増殖および植物体再生

根組織切片から誘導した培養体の *in vitro* 増殖と効率的な植物体再生法について検討した。継代培養により不定芽、不定胚の生育と共に幼植物体上に二次不定胚の形成が観察され、30日後には

移植時の4倍の生体重に増殖した。外植体置床9か月後には1外植体から40,000個以上の幼植物体
が得られた。最終培養時に、GA5mg/l添加培地を用いると幼植物体の生育が著しく促進され培養
体からの植物体再生数が増加した。

1-3. 固体支持材・培養液の種類が培養幼植物体の生育に及ぼす影響

培養幼植物体の生育に及ぼす固体支持材と培養液の種類の影響およびセル成型トレイによる培
養苗の直接順化・育苗法について検討した。固体支持材として、パーミキュライトにパーライト
または水苔を混合した培地を用いると培養幼植物体の生育が進み、効率良く再生植物体を得られ
た。培養液は、ハイポネックスまたは市販の養液栽培用液肥を用いるとMS液体培地よりも生育が
良かったが、いずれの培養液ともショ糖の添加が必要であり、添加しないと植物体再生数は劣っ
た。パーミキュライトを充鎮したセル成型トレイに培養幼植物体を分割置床し、灌水後密閉容器
内で2か月間管理するとセル成型苗に育苗できた。この方法は培養幼植物体の直接順化育苗法とし
て有効である。

1-4. 品種間差異および培養苗の実用性

根組織培養の品種間差異と増殖した培養苗の変異調査および圃場栽培での生育を検討した。根
組織切片からのカルス形成率、カルスからの不定胚形成および植物体再生の品種間差はみられな
かった。培養苗には、フローサイトメーターによる幼葉における核DNA量の変異は認められなかつ
た。培養苗の圃場へ定植後の生育は、従来の根伏せ繁殖苗と同等で形態変異も観察されず、落葉
後にはふかし用穂木として利用できる大きさとなった。

1-5. 根組織培養苗の生産コスト試算

根組織培養によりタラノキの培養苗10,000本を生産する場合の資材費と人件費について
試算した。既存の培養施設を利用すれば、培養苗1本当たりに係る経費は約32円で、その内訳は、
資材費37.5%、人件費62.5%である。育苗率を80%とするとセル成型トレイ1個当たり約2,000
円となり、生産者自らが行えば経営的にも実用可能である。

2. アシタバの根組織培養による種苗生産技術の確立

*in vitro*培養体を得るための初代培養は、未展開葉基部の葉柄横断切片を外植体として用い、1
~2mg/l 2,4-Dと0~0.1mg/l BAを組み合わせ添加したMS培地に置床すれば再生植物が得られた。
次に、再生植物の根組織切片を外植体に用い、1~2mg/l 2,4-D単独添加培地および2,4-Dと0~
0.1mg/l BA併用添加培地でいずれも100%の不定胚形成率であった。不定胚は、植物生長調節物質
を添加しないMS培地に移植して継代培養を行えば幼植物体に生育した。順化後、ポット植えた
再生植物は45日後には新葉が現れ生育は旺盛であった。

3. セリの根組織培養による種苗生産技術の確立

*in vitro*培養体を得るため、頂芽または側芽の茎頂を0.1mg/l NAAと0~0.1mg/l BAを添加した
1/2MS寒天培地で培養すると再生植物が得られた。次に、再生植物の根組織切片を、0.05~1mg/l
2,4-Dと0~0.1mg/l BAを添加したMS寒天培地に置床して、25℃、暗黒条件下で培養するとカルス

が形成した。形成したカルスをフリー培地に移植するとECが誘導され、その後不定胚が形成した。不定胚は、植物生長調節物質を添加しないMS培地で継代培養すれば完全な再生植物体となった。再生植物の葉柄および根組織切片を外植体に用い、再度同様の条件下で培養を繰り返せば、外植体から効率に再生植物が得られた。この方法は、従来の株分け繁殖に比べ、非常に効率的な増殖法であることが判明した。

4. サクラソウの根組織培養による種苗生産技術の確立

サクラソウ園芸品種の葉切片培養における品種間差異を検討した。4.44×10⁻⁶M BAと5.3×10⁻⁷M NAAを添加した1/2MS培地での植物体再生には品種間差異が認められた。次に、*in vitro*再生植物の根組織切片を10⁻⁶M BA単独添加のMS培養に置床して培養すると高率にカルスが得られ、カルスから不定芽が形成した。形成した不定芽は、植物生長調節物質を添加しないMS培地に移植して継代培養すると5~6本のシュートの伸長とともに発根が認められ再生植物となった。培養条件は20~25℃が適温で、暗黒下より照明下の方がカルスから形成した不定芽の伸長が良かった。培養苗は、バーミキュライトを詰めた育苗器内に仮植した後、培養土を用いてポット植えすることにより効率良く順化できた。

以上のように、本研究で確立した種苗生産技術は、いずれの植物とも順化時の培養苗 (*in vitro* 培養体) の根組織切片を外植体として利用する方法である。外植体は無菌であり取り扱い操作が簡単なため、無菌操作を習得した者であれば誰でもできる簡易な方法である。従って、既存の培養施設を利用して生産者自らが行えば安価な種苗が計画的に生産できる点で優れている。本研究は、中国地方の中山間や島嶼部地域内に自生する山菜・観賞用野草の未利用植物資源を有効利用するといった小規模生産に活用され、地域の特徴や個性を生かした村興しに寄与するものと期待される。

論文審査の結果の要旨

山菜・山野草類を対象とした組織培養による簡易な種苗増殖技術の開発を目的として根組織切片培養による大量増殖と簡易育苗システムの確立について検討した。研究に取り上げた種類は、タラノキ、アシタバ、セリ、サクラソウである。

1. タラノキの根組織培養による種苗生産技術の確立

タラノキは根伏せ繁殖で増殖されている。本研究では *in vitro* 培養体の根組織切片培養による大量増殖と簡易育苗システムを確立する一連の研究を行った。

1) 培養体由来根組織からの不定芽、不定胚形成および植物体再生

葉柄切片再生個体の根組織切片を外植体として2,4-Dを添加したMS培地に置床し、25℃、暗黒下で30日間培養し、形成したカルスを2,4-Dフリー培地に移植して継代培養を行うと、不定芽お

よび不定胚（培養体）が形成され、多数の再生植物が得られた。

2. 培養体の *in vitro* 増殖および植物体再生

培養体は継代培養により、30日後には移植時の4倍の生体重に増殖した。外植体置床9か月後には1外植体から4万個以上の幼植物体を得られた。GA添加培地で最終培養を行うと幼植物体の生育が著しく促進され培養体からの植物体再生数が増加した。

3) 固体支持材・培養液の種類が培養幼植物体の生長に及ぼす影響

最終培養時に固体支持材培地を用いると培養幼植物体の生育が進み、効率良く再生植物体を得られた。培養液は、ハイポネックスまたは市販の液肥でも充分であった。また、パーミキュライトを充鎮したセル成型トレイによる直接順化育苗が可能であった。

4) 品種間差異と培養苗の実用性および生産コスト試算

根組織培養の品種間差異は見られず、培養苗の圃場栽培での生育は、従来の根伏せ繁殖苗と同等で形態変異も観察されず、落葉後にはふかし用穂木として利用できる大きさとなり実用性が認められた。本手法は、既存の培養施設を利用すれば、培養苗1本当たりに係る経費は約32円で、生産者自らが行えば経営的にも実用可能である。

2. アシタバの根組織培養による種苗生産技術の確立

初代培養は、未展開葉基部の葉柄横断切片を外植体として用い、2,4-DとBAを組み合わせて添加したMS培地に置床すれば再生植物が得られた。次に、再生植物の根組織切片を外植体に用い、1~2mg/l 2,4-D添加培地で培養すれば100%の不定胚形成率であった。不定胚は、植物生長調節物質を添加しないMS培地に移植して継代培養を行えば幼植物体に生育した。順化後、ポット植えた再生植物の生育は旺盛であった。

3. セリの根組織培養による種苗生産技術の確立

茎頂培養による再生植物の根組織切片を、2,4-DとBAを添加したMS培地に置床して、25℃、暗黒条件下で培養するとカルスが形成した。カルスをフリー培地に移植するとECが誘導され、その後不定胚が形成した。不定胚は、植物生長調節物質を添加しないMS培地で継代培養すれば再生植物体となった。次に、再生植物の葉柄および根組織切片を外植体に用い、培養を繰り返せば、外植体から効率に再生植物が得られた。

4. サクラソウの根組織培養による種苗生産技術の確立

園芸品種の葉切片培養における品種間差異を検討した。BAとNAAを添加した1/2MS培地での植物体再生には品種間差異が認められた。次に、*in vitro*再生植物の根組織切片をBA単独添加のMS培地に置床して培養すると高率にカルスが得られ、カルスから不定芽が形成した。形成した不定芽は、植物生長調節物質を添加しないMS培地に移植して継代培養すると複数のシュートの伸長とともに発根が認められ多数の再生植物が得られた。

以上のように、本研究で確立した種苗生産技術は、いずれの植物とも *in vitro* 培養体の根組織

切片を外植体として利用する方法である。外植体は無菌であり取り扱い操作が簡単なので、無菌操作を習得した者であれば誰にでもできる簡易な方法である。従って、既存の培養施設を利用して生産者自らが行えば安価な種苗が計画的に生産できる点で優れている。本研究は、中国地方の中山間や島嶼部地域内に自生する山菜・観賞用野草の未利用植物資源を有効利用するといった小規模生産に活用され、地域の特徴や個性を生かした村興しに寄与するものと期待される。なお、本研究で得られた成果は、いずれも実用価値があるとともに、根組織からの大量増殖による種苗生産と簡易育苗システムを確立したことはこれまでに事例がなく、今回がはじめてである。また、この手法は発生が困難とされる根組織からの不定芽および不定胚の形成を高率に得られることから、学術的にも価値が高い。よって十分、学位取得に値する。