

茎頂培養による秋ギク‘秀芳の力’優良母株の急速増殖技術

第1報 多芽体誘導による大量増殖

古谷 博

キーワード：キク、茎頂培養、大量増殖、多芽体

近年の切り花の生産は、フラワーアレンジメントに利用される洋花類が増加してきている。しかし、キクは依然として切り花の第一位の地位にあり、広島県内の平成9年の栽培面積は約100haで、切り花の35%を占めている。切り花の内、業務用として使われる輪ギクの主要品種は、秋ギクの‘秀芳の力’と夏秋ギクの‘精雲’であり、この2品種の県内における栽培面積はおよそ30haである。

‘秀芳の力’、‘精雲’は、育成されてから20年以上経過し、花径の小型化や生育の不揃い等、切り花品質の低下が問題となっている。この原因として、長年栽培されてきたキクの多くの品種はウイルスに罹病している¹⁶⁾こと、また、芽条変異が起こり易く、挿し芽繁殖の過程で形質が劣化する方向に変異していることも考えられる。

この対策には、ウイルスフリー化によって生育が旺盛になる茎頂培養苗を用いることが有効であり¹⁴⁾、著者*も‘精雲’で切り花品質が向上することを認めている。また、全国のキク主産地は‘秀芳の力’の優良系統を選抜し、その茎頂培養苗の育成と増殖配布を組織的に行なっている**^{8,12,14)}。

従来の茎頂培養法では、1茎頂から1個体の再生植物を育成して開花時に特性検定を行った後、原々種として隔離栽培を行い、挿し芽繁殖で増殖した母株から切り花栽培用の苗を生産する。しかし、キクの切り花栽培における栽植本数は10a当たり15,000本と多いため、この方法では茎頂培養苗の作出に多くの労力を要し、培養苗か

ら切り花栽培用の苗生産までに長期間を要する。

キクの組織培養による大量増殖は、従来の茎頂培養²⁾以外に茎頂からの多芽体^{1,7,13)}や苗条原基^{9,10)}誘導の報告はあるが実用化していない。そこで、秋ギク‘秀芳の力’優良母株の早期増殖普及を目的に、茎頂からの多芽体誘導による大量増殖法について1996～1997年に検討した。その結果、短期間で効率良く大量の培養苗を生産できる組織培養技術を確立したので、概要を報告する。

材料および方法

1. 茎頂からの多芽体誘導

茎頂の摘出は、母株を摘心した後に伸長した新梢の先端部分3～5cmを供試し、有効塩素濃度0.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で15分間振とう滅菌し、クリーンベンチ内で滅菌水により3回洗浄した後、顕微鏡下で生長点近傍組織0.5mm大を切り取った。

多芽体誘導培地は、Murashige and Skoog (1962)¹¹⁾培地（以下MS）にショ糖3%を加えた液体培地を基本として植物ホルモンを調整添加し、径30×高さ200mmの試験管に30mlずつ分注して作成した。

摘出した茎頂は、試験管に1個ずつ入れ、2rpmに設定した回転培養器にセットして、25℃、10,000lx、24時間照明下で培養した。

1) 予備試験

培地へ添加する植物ホルモンの種類と濃度は、サイトカイニンはベンジルアデニン（BA）を、オーキシンは1-ナフタレン酢酸（NAA）を使用し、それぞれ0.02、0.2、2.0mg/lを組合せて検討した。秋ギク‘秀芳雄志’の茎頂を1区10個供試し、培養開始45日後の多芽体形成率を調査した。

2) 本試験

予備試験の結果を踏まえ、培地へ添加する植物ホルモ

本報告の一部は、1998年の園芸学会中四国支部会において発表した。

*：広島県立農業技術センター生物工学研究所研究成績書。平成6年度：29-30。1995

**：農耕と園芸：48(3)：126-141。誠文堂新光社。

1993

平成11年2月15日受理

ンの種類と濃度は、サイトカイニン BA を0.2mg/lに固定し、組合わせるオーキシンは NAA または2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) を0.02, 0.2mg/l添加して検討した。秋ギク‘秀芳の力’の茎頂を1区15個供試し、培養開始45日後に多芽体の形成率およびその大きさ(径10mm大に分割した集塊数)について調査した。

2. 多芽体の継代と増殖

材料は、茎頂培養開始45日後に茎頂から誘導した多芽体を径10mm大に分割したものを供試し、液体培地と固形培地を用いて多芽体の継代と増殖方法について検討した。

1) 液体培地による継代

供試した多芽体は、‘秀芳の力’の茎頂から BA0.2+2,4-D0.2mg/l添加と BA0.2+2,4-D0.02mg/l添加の液体培地で誘導したものをを用いた。

多芽体継代培養は、多芽体誘導と同じ組成の液体培地に分割した多芽体を移植した。試験は、試験管(径30mm, 高さ200mm, 培地量30ml)に1集塊を移植し、1区10本供試して行なった。培養は、多芽体誘導と同様な条件で30日間行い、その増殖量(径10mm大に分割した集塊数)について調査した。

2) 固形培地による増殖

予備試験として供試した多芽体は、‘秀芳雄志’の茎頂から BA2.0+ NAA0.2mg/l添加の液体培地で誘導したものをを用いた。

多芽体増殖用の固形培地(寒天0.8%)は、ショ糖3%を含むMS培地を基本とし、BA0.02, 0.2mg/lとNAA0, 0.02, 0.2mg/lを組合わせて検討した。試験は、培養ボトル(径70mm, 高さ100mm, 培地量40ml)に5個の分割した多芽体を移植し、5反復で行なった。

本試験の供試材料は、‘秀芳の力’の BA0.2+ NAA0.02mg/l添加の液体培地で誘導した多芽体を用いた。予備試験の結果を踏まえて、培地へ添加する植物ホルモンは BA0.2mg/lと BA0.2+ NAA0.02mg/lに調整した固形培地で検討した。試験は、培養ボトル(径70mm, 高さ100mm, 培地量40ml)に6~8個の分割した多芽体を移植し、8反復で行なった。

なお、培養はいずれも25°C, 3,000lx, 16時間照明下で行い、調査は、30日間培養後の多芽体の増殖量(径10mm大に分割した集塊数と集塊内の芽数)について行なった。

3. 多芽体からの植物体再生

多芽体から効率良く再生植物を得るため、苗化培地の種類とショ糖添加量および苗化培養時の通気の効果につ

いて検討した。

1) 苗化培地の検討

供試材料は、MS液体培地(BA0.2+ NAA0.02mg/l)で誘導した‘秀芳の力’の多芽体を、MS固形培地(BA0.2mg/lおよびBA0.2+ NAA0.02mg/l)で増殖し、径10mm大に分割したものをを用いた。苗化培地の検討は、ホルモンプリーのMSとその培地組成を半分にした1/2MSおよびハイポネックス(2g/l:6.5-6.0-19)培地に、それぞれショ糖1.5, 3%添加してpH5.7に調整後、寒天0.8%を加えた6種類の培地で行なった。

苗化培養は、試験管(径25mm, 高さ100mm, 培地量10ml)内の苗化培地に、それぞれ1区30個の集塊(1集塊/試験管)を移植して30日間培養した後、多芽体の生育について調査した。植物体の再生は、多芽体を再度5分割して同一培地にそれぞれ移植し、25日間培養を行ない順化時に再生植物の生育と本数を調査した。なお、培養は25°C, 3,000lx, 16時間照明下で行なった。

2) 苗化培養における通気の効果

供試材料は、1)と同様に‘秀芳の力’の多芽体を径10mm大に分割したものをを用いた。

培地は、ショ糖3%を加え、pH5.7に調整したホルモンプリーのMS固形培地(寒天0.8%)を用いた。試験区として、培養ボトルの蓋に径6mmの穴を1個開けてテフロン製無菌通気膜(ミリシール)を貼った通気区と対照区(穴無し蓋密閉)を設けた。試験は、培養ボトル(径70mm, 高さ100mm, 培地量40ml)に5個の分割した多芽体を移植し、10反復で行なった。通気の効果は、25日間培養後、順化時に多芽体からの再生植物の生体重、乾物重およびシュート伸長数を調査して判定した。なお、培養は25°C, 3,000lx, 16時間照明下で行なった。

結 果

1. 茎頂からの多芽体誘導

1) 予備試験

‘秀芳雄志’の茎頂からの多芽体形成に有効なBAとNAAの組合せ、およびその添加濃度について検討した結果を表1に示した。

多芽体は、BA0.02~2.0mg/l+NAA0.02~0.2mg/lを組合せた6区で誘導できた。中でもBA0.2+NAA0.02mg/l区が形成率70%で最も高く、BA0.02+NAA0.02mg/l区が10%と低かった。他の試験区の形成率は50~60%であった。

2) 本試験

‘秀芳の力’を供試し、BA0.2mg/l添加に組合わせる

オーキシンの種類と添加濃度が多芽体形成に及ぼす影響について検討した結果を表2に示した。

多芽体形成率は、NAAでは0.02mg/l区が100%、0.2mg/l区が87%、また、2,4-Dでは0.02、0.2mg/l両区とも93%と非常に高かった。誘導した多芽体は、茎頂培養開始45日後には径30mmの試験管内にほぼいっぱいとなった(写真1)。多芽体の大きさは、NAA、2,4-Dとも0.02mg/l区の方が0.2mg/l区より少し大きく、径10mm大に分割した集塊数でみると、0.02mg/l区は4.4~4.5個で

0.2mg/l区の3.1~3.3個より約1個多かった。

2. 多芽体の継代と増殖

1) 液体培地による継代

茎頂から液体培地で誘導した多芽体を、分割して同一の液体培地で回転培養した結果を表3に示した。

分割移植した多芽体は、その形態を維持したまま増殖した。継代培養30日後の大きさを、径10mm大に分割した集塊数でみると、BA0.2+2,4-D0.02mg/l区の5.7個に対し、BA0.2+2,4-D0.2mg/l区は8.0個と多かった。しかし、茎頂培養開始75日間後の1茎頂から誘導され増殖した多芽体の集塊数(径10mm大に分割した数)は、BA0.2+2,4-D0.2mg/l区が24.8個、BA0.2+2,4-D0.02mg/l区は25.7個となり、その差は小さくなった。

2) 固形培地による増殖

液体培地(BA2.0+NAA0.2mg/l添加)で誘導した‘秀芳雄志’の多芽体を、BAとNAAを添加した固形培地に分割移植して30日間培養した結果を表4に示した。

多芽体の増殖量は、多芽体1集塊当たりの芽数でみるとNAA無添加のBA0.2mg/l区で35.4個と最も多く、次いで、BA0.2+NAA0.02mg/l区が30.8個と多かった。しかし、NAAの添加量を0.2mg/lに高めると集塊当たりの芽数は18個にとどまった。

次に、液体培地(BA0.2+NAA0.02mg/l添加)で誘導した‘秀芳の力’の多芽体を、固形培地(BA0.2mg/l, BA0.2+NAA0.02mg/l添加)に分割移植して培養(写真2)した結果を表5に示した。

多芽体1集塊当たりの生体重は、2.0、1.7gと試験区間に大差は無かった。肉眼で観察した多芽体1集塊内の芽数は、BA0.2mg/l区で42.5個とBA0.2+NAA0.02mg/l区の36.5個より多かった。

茎頂培養開始75日後の1茎頂から増殖した芽数は、初代培養の分割数4.4倍(表2)から計算すると、BA0.2

表1 BAとNAAの添加量が茎頂からの多芽体形成に及ぼす影響(1996)

培地への添加量 (mg/l)		BA		
		0.02	0.2	2.0
NAA	0.02	50	70	50
	0.2	10	50	60
	2.0	0	0	0

(注) 供試品種‘秀芳雄志’，供試数：1区10茎頂
数字は多芽体形成率(%)，基本培地はMS液体培地

表2 オーキシンの種類と添加量が茎頂からの多芽体形成に及ぼす影響(1997)

オーキシン 種類 添加量		多芽体	
		形成率(%)	分割数(個)*
NAA	0.02	100	4.4
	(mg/l) 0.2	87	3.3
2,4-D	0.02	93	4.5
	(mg/l) 0.2	93	3.1

(注) 供試品種‘秀芳の力’，供試数：1区15茎頂
BA0.2mg/l，*：多芽集塊分割数
基本培地はMS液体培地

表3 BAと2,4-Dの添加量が多芽体の増殖に及ぼす影響(1997)

培地への添加量 (mg/l)	多芽体の大きさ(集塊数)		
	初代培養(a個) ¹⁾	増殖培養(b個) ²⁾	増殖量(a×b個) ³⁾
BA0.2+2,4-D0.02	4.5	5.7	25.7
BA0.2+2,4-D0.2	3.1	8.0	24.8

(注) 供試品種‘秀芳の力’，供試数：1区10個(1集塊/試験管)，2反復
基本培地はMS液体培地

1) 初代培養45日後の増殖培地への分割移植集塊数

2) 増殖培養30日後の苗化培地への分割移植集塊数

3) 75日間培養後の1茎頂当たりの増殖多芽集塊数

mg/1区で187個, BA0.2+ NAA0.02mg/1区では160個となった。なお, 苗化培地への分割移植集塊数は3.7~4.2個と差はなかった。

表4 BAとNAAの添加量が多芽体の増殖に及ぼす影響 (1996)

培地への添加量 (mg/l)	BA	
	0.02	0.2
NAA 0	8.6	35.4
0.02	11.0	30.8
0.2	18.2	18.0

(注) 供試品種: '秀芳雄志'

初代培養: BA2.0+NAA0.2mg/1添加MS液体培地

基本培地はMS固形培地(寒天0.8%)

供試数: 1区5集塊(培養ボトル1個), 5反復

数字は1集塊当たり肉眼観察芽数

3. 多芽体からの植物体再生

1) 苗化培地の検討

苗化培地に移植し, 30日間培養後の多芽体と, その後再度5分割した集塊を25日間培養して再生させた植物(写真3)の順化時の生育調査の結果を表6に示した。

なお, 増殖培地 BA0.2mg/1区と BA0.2+ NAA0.02mg/1区から移植した多芽体の苗化培地での試験成績には差がなかったので, 表6のデータは2区の平均値で表した。

苗化培地で30日間培養後の1集塊当たりの生体重は, MS区が2.4~2.9gと一番大きく, 1/2MS区およびハイポネックス区より優れていた。1集塊内の芽数もMS区が20個と多かった。その後, 再度5分割して同一培地で25日間培養して得られた再生植物の順化時の生体重はMS区が6.7~7.2gと一番大きく, 1/2MS区およびハイポネックス区との間に有意差が認められた。

順化時における再生植物数は, MS区が1試験管当たり3.1~3.7本, 苗化培地へ移植した多芽体1集塊当たり

表5 BAとNAAの添加量が固形培地による多芽体の増殖に及ぼす影響 (1997)

培地への添加量 (mg/l)	多芽体の増殖 ¹⁾			増殖芽数 ²⁾ 個/茎頂
	生体重(g)	芽数a(個)	分割集塊(個)	
BA0.2	2.0	42.5	3.7	187
BA0.2+NAA0.02	1.7	36.5	4.2	160

(注) 供試品種: '秀芳の力', 供試材料: 初代培養BA0.2+NAA0.02mg/1添加MS液体培地で誘導した多芽体, 供試数: 1区6~8集塊(培養ボトル1個), 8反復 基本培地はMS固形培地(寒天0.8%)

1) 固形培地へ分割移植後, 30日間培養後の1集塊当たりの生体重と肉眼観察芽数及び, 苗化培地への分割移植集塊数

2) 茎頂培養75日後の増殖芽数=初代培養の増殖率(4.4倍)×a

表6 苗化培地の種類とショ糖添加量が多芽体からの植物体再生に及ぼす影響 (1997)

苗化培地		移植時の多芽集塊 ¹⁾		順化時 ²⁾	草丈 ³⁾	再生植物数 ⁴⁾	
種類	ショ糖(%)	生体重(g)	芽数/集塊	生体重(g)	(mm)	a	b
MS	1.5	2.9**	20.4*	7.2*	51	3.7*	18.3*
	3.0	2.4**	20.1*	6.7*	46	3.1	15.5
1/2MS	1.5	2.1	19.4*	5.5	46	3.5*	17.3*
	3.0	1.8	17.2	5.0	44	2.9	14.5
ハイポネックス	1.5	1.6	16.5	3.7	42	2.8	14.0
	3.0	1.5	16.6	3.2	33	2.1	10.5

(注) 供試品種: '秀芳の力', 供試材料: BA0.2mg/l, BA0.2+NAA0.02mg/1添加MS固形培地で増殖した多芽体, 供試数: 1区30個(1集塊/試験管)

1) 増殖多芽体を5分割し, 30日間培養後の1集塊当たりの生体重, 芽数

2) 再度5分割して同一培地に分割移植し, 25日間培養後の生体重

3) 順化時の最大シュート伸長量

4) a: 順化時の1試験管当たり再生植物本数

b: 増殖多芽体1集塊当たり再生植物本数

*: 5%水準で有意差あり

**: 1%水準で有意差あり

では15.5～18.3本と多かった。MS区より無機塩類濃度の低い1/2MSおよびハイポネックス区の多芽体1集塊当たりの再生植物数は14.5～17.3本、10.5～14.0本とMS区より少なかった。また、ショ糖濃度は、いずれの苗化培地とも1.5%区の方が3%区より再生植物数が多い傾向が認められ、さらに多芽体からのシュートの伸長にもショ糖濃度の低い方が有効であった。

2) 苗化培養における通気の効果

苗化培地に分割移植した多芽体を30日間培養し、順化時に行なった生育調査の結果を表7に示した。

多芽体からのシュート伸長数は、通気区15.4本、対照区10.9本と、通気区の方が多かった。従って、苗化培地へ移植時の集塊内の芽数（平均22個）に対する再生植物の育成率は、対照区の49.5%に対して通気区は70%と高かった。一方、苗化培地へ移植した1個の集塊から得た再生植物の総生体重、地上部生体重および乾物重は両区に差が無かった。なお、通気培養により地上部の乾物割合が高くなり、充実した再生植物が得られる傾向にあった。

以上の結果、秋ギク‘秀芳の力’優良母株の増殖は、茎頂からの多芽体誘導により効率的に行なうことが可能となった。すなわち、茎頂をBA0.2+NAA0.02mg/l添加のMS液体培地で回転培養を行い、多芽体を誘導する。次に、多芽体を10mm大の集塊に分割し、BA0.2mg/l添加のMS固形培地で増殖した後、再度、分割してホルモンフリーのMS培地に移植し、苗化培養を行なえば再生植物が得られる。従って、この増殖技術を用いると1個の茎頂から130日間で240本の培養苗が育成できた。

なお、再生植物はパーミキュライトを用人土にして1～2週間順化した後、園芸用人土を詰めたセル成型トレイに植え付けた。再生植物のウイルス検定は行なわなかったが、生育は良好で茎葉の形態的変異は認められなかった。その後、当センターのガラス室内で管理した結果、秋には開花して冬至芽も発生したことから、母株としての実用性が認められた。

考 察

茎頂からの多芽体誘導と増殖

植物の茎頂培養は、一般的には培地に添加する植物ホルモンの内、オーキシン濃度が高いとカルス化する傾向が強く、オーキシン濃度とサイトカイニン濃度が共に低いと早生分枝が見られ、サイトカイニン濃度が高いと多芽体を形成する傾向が強くなる¹⁵⁾。

秋ギクの茎頂を用いた本試験の液体培地での回転培養の結果も同様の傾向にあり、サイトカイニン：オーキシン比が10：1であるBA0.2mg/l+NAAまたは2,4-D 0.02mg/l区で多芽体の誘導率が高く、更に多芽体の形態維持および増殖にも有効であった。

固形培地でのキク茎頂からの多芽体誘導に関する報告^{1,7,13)}によると、供試品種はそれぞれ異なるが、添加する植物ホルモンはKinetin2.0+NAA0.2, 0.02mg/lあるいはKinetin0.8+IAA0.5ppmである。本試験結果と比較するとオーキシンの濃度はほぼ同じであるが、サイトカイニンの濃度が全体的に高い。

大量増殖を目的とした培養方法に、茎頂を液体培地で回転培養し、苗条原基を誘導して増殖する方法がある。苗条原基は遺伝的に安定しており、植物体への再分化が容易で大量増殖能に優れた特徴を有する¹⁵⁾。この苗条原基誘導は、カルスと早生分枝の境界領域の培養条件で見られ、苗条原基と多芽体の混成体は比較的容易にできることが知られている¹⁵⁾。キクでは、古賀ら⁹⁾、近藤ら¹⁰⁾がBA0.125～2.0mg/lとNAA0.25～4.0mg/lの広い濃度範囲の組合わせで苗条原基の誘導を認めている。しかし、本試験ではカルスおよび早生分枝の形成は見られなかったが、苗条原基は認められなかった。これは、上記報告と比較し、本試験の多芽体誘導培地はBAの添加量はほぼ同じであるが、NAAの添加量がかなり低いことが影響していると考えられる。

液体培地で誘導した多芽体は、径10mm大の集塊に分割

表7 苗化培地における通気が多芽体からの植物体再生に及ぼす影響 (1997)

試験区	順化時 生体重 (g)	地 上 部			シュート 伸長数 ¹⁾ (本)	再生植物 育成率 ²⁾ (%)
		生体重 (g)	乾物重 (mg)	乾物割合 (%)		
通 気	10.2	5.4	399	7.4	15.4	70.0
対 照	10.4	5.9	405	6.9	10.9	49.5

(注) 供試品種‘秀芳の力’、供試数：1区5集塊（培養ボトル1個）、10反復

基本培地はMS固形培地（寒天0.8%）

苗化培地へ移植時の多芽集塊の大きさ：生体重 2.5g、乾物割合 4.9%、芽数 22個

1) 1cm以上伸長数、2) シュート伸長数/移植時の多芽体の芽数×100

して植物ホルモンを添加した MS 固形培地に移植し、継代培養を行えば30日間で約4倍に増殖が可能であった。この増殖過程で、NAA の効果は BA の効果より劣り、BA の添加量が多い時にはむしろその効果を低めた。しかし、多芽体の芽の増加には BA 添加の効果が大きく、NAA の添加は抑制的に働くものと思われた (表4)。

多芽体からの植物体再生

著者⁵⁾は、キクの花弁から誘導した多芽体の苗化培地は、ハイポネックス培地で可能であることを報告した。また、藤野ら²⁾は、キクの茎頂から育成した無菌植物の継代培養による増殖培地はハイポネックス培地が適当であるとしている。秀田ら⁶⁾も、同様にキクの茎頂培養苗を培養容器内で節挿し増殖する際の培地の種類は、ハイポネックス培地が MS や 1/2MS より草丈が優れることを報告している。

本試験では、多芽体からの植物体再生は MS 培地が良く、MS 培地より無機塩濃度の低い 1/2MS やハイポネックス培地では多芽体からのシュートの伸長が少なく、前報告⁵⁾とは異なった。このことは、苗条原基の苗化には 1/2MS 培地が適するという報告⁹⁾があることから、液体培養で誘導した多芽体や苗条原基の再生には、ハイポネックス培地よりも無機塩濃度が高い培地が必要で、固形培地で誘導した多芽体とは異なると推察された。なお、本試験では、苗化培地のショ糖添加量は 3% より 1.5% の方が再生植物数が多かった。著者⁵⁾は、キクの花弁培養においてこれと同様の結果を得ていることから、苗化培地のショ糖添加量を MS 培地の標準量の半量 (1.5%) に減らした方が、多芽体からのシュート伸長および植物体再生には効率的であると考えた。

一方、苗化培養時に培養ボトルの蓋に穴を開けて通気培養を行なった結果、多芽体からの再生植物育成数が多く、再生植物の乾物率が高くなった。このことは、培養容器内の環境条件等の測定を行っていないので詳細は分からないが、通気区で乾物率が高いことから通気による湿度の低下が多芽体からの植物体再生に影響したものと考えられ、培養苗育成の効率化に有効と判断した。

多芽体誘導による急速増殖技術の体系化

キクの茎頂培養苗による切り花栽培の実用化を図るためには、増殖効率を上げると共に培養コスト低下を図らねばならない。藤野ら²⁾によると、初代茎頂培養の育成率が70%、腋芽の継代培養による増殖率約4倍で発根率80%とした場合、100本の培養材料 (側芽茎頂) から育成できる培養苗は239本である。また、古賀ら⁹⁾の苗条

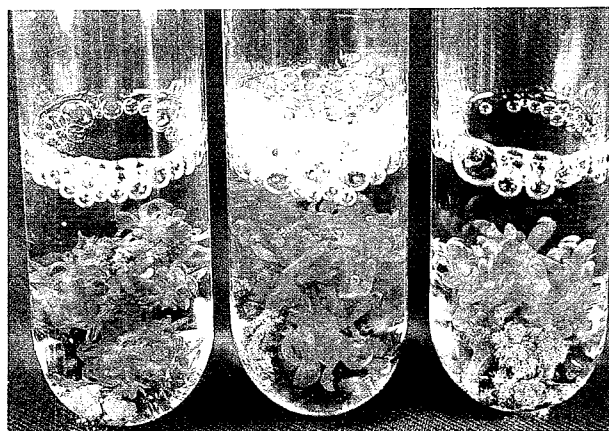


写真1 茎頂から誘導した多芽体
MS 液体培地 (BA0.2 + NAA 0.02mg/l) の回転培養により誘導した45日後の多芽体

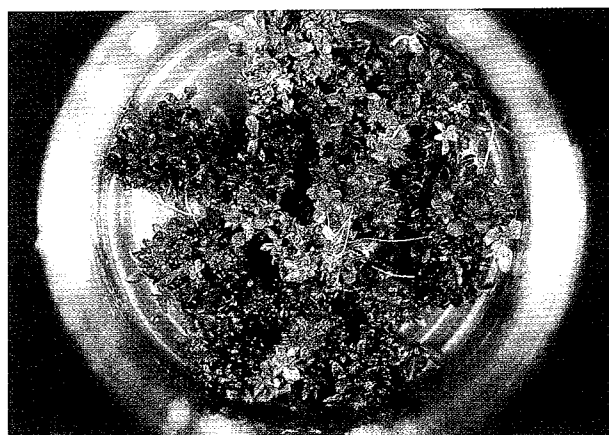


写真2 固形培地による多芽体の増殖
MS 固形培地 (BA0.2mg/l) へ分割移植し、30日間増殖培養を行なった多芽体



写真3 増殖多芽体からのシュート伸長
MS 固形培地 (ホルモンフリー) へ移植し、30日間苗化培養を行なって得た再生植物

原基の報告では、茎頂からの苗条原基の誘導率20%、苗条原基集塊1gからのシュート形成数を506本とした場合、茎頂置床153日後に得られるシュート数は約280本である。

本試験で確立した手法は、茎頂からの多芽体誘導率が100%と非常に高く、多芽体の増殖率は初代培養の誘導時には45日間で4倍、固形培地による増殖培養時には30日間で4倍である（表2、5）。従って、茎頂置床75日後には1茎頂から16個の多芽集塊が得られ、多芽集塊内の芽数を40個として計算すると640個の芽が器内増殖可能である。また、器内増殖した多芽体の苗化培養を行えば、1茎頂から130日間で240本の培養苗を急速に増殖でき、上記報告の苗条原基と同様に増殖効率が高い。以上により、キク茎頂からの多芽体誘導による急速大量増殖が可能となり、その培養技術の体系化を図1示した。

秋ギクの切り花栽培では、本圃10a当たりの定植苗（標準的な栽植本数15,000本）を得るための採穂用母株は開花後株では400～500株、挿し芽苗では1,300～1,400本が必要である⁴⁾。本手法によれば、1茎頂から240本の培養苗が得られるので、優良母株の新梢6本を供試して茎頂培養を行えば約1,500本の培養苗が育成可能である。初年度はこの培養苗のシュート（挿し芽苗）による切り花栽培が可能であり、翌年はその開花株および母株養成した培養苗がそれぞれ採穂用母株として利用できる。従って、茎頂培養2年後には優良母株1個体からの培養苗による切り花栽培面積は20～30aに普及可能となり、増殖効率の面からは実用的には十分であると考えられる。

最後に、本試験で確立した培養法を実用化するためには、培養変異の発生問題を解決しなくてはならない。キクの茎頂培養では、花色、染色体数、葉や花卉の形と大きさ、草丈、開花枝数、開花期等の変異の発生が認められている³⁾ので、培養変異を起こさない培養系の検討が必要である。今後、この技術の実用化を図るために、多芽体増殖苗の切り花栽培の現地試験を行い、培養変異の検定と生産力について検討する必要がある。

摘 要

秋ギク‘秀芳の力’優良母株の早期大量増殖と普及を図るために、茎頂からの多芽体誘導による大量増殖体系を確立した。

1. 茎頂からの多芽体は、BA0.2mg/lとNAA0.02mg/l添加したMS液体培地で回転培養を行えば100%と高率に誘導できた。
2. 誘導した多芽体は、初代培養では45日間で径10mm大の集塊3～4個に分割可能な大きさとなった。
3. 誘導した多芽体は、BA0.2mg/l添加の固形培地で培養すると、30日間で径10mm大の集塊4個分の大きさとなった。
4. 多芽体を分割し、ホルモンフリーのMS培地に移植して苗化培養を行えば、移植した多芽体当たり15～18本の再生植物が得られた。
5. 苗化培地のショ糖添加量は、標準の半量に減量した方が再生植物数が多く得られる傾向にあった。

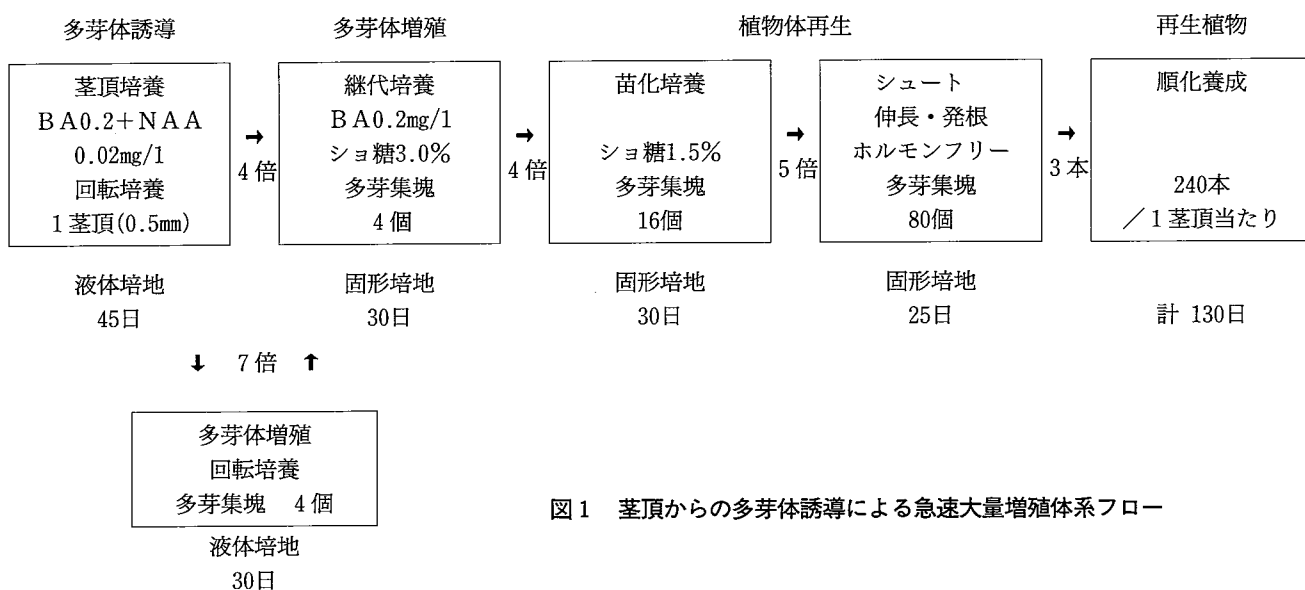


図1 茎頂からの多芽体誘導による急速大量増殖体系フロー

6. 苗化培養時の通気は、多芽体からの再生植物の育成率が高く、得れる再生植物数が多かった。
7. 以上の結果、本手法によれば1茎頂から130日間で240本の培養苗が育成できる。

謝 辞

本研究は、広島県立西条農業高等学校の里譲治教諭と広島県山県郡芸北町産業振興課の表崎宗樹技師の協力を得て行なった。ここに記し、両氏に対し深く感謝の意を表する。

引 用 文 献

- 1) Earie, E. D. and R. W. Langans: 1974. Propagation of *Chrysanthemum in vitro*. I. Multiple plantlets from shoot tips and the establishment of tissue cultures. J. Amer. Soc. Hort. Sci. **99**(2). 128-132.
- 2) 藤野守弘・藤岡作太郎・藤村 良: 1972. 茎頂培養によるキクの増殖. 兵庫農試研報. **20** : 125-130.
- 3) ———: 1990. 花きの組織培養における変異の発生. 誠文堂新光社. バイオホルティ **4** : 15.
- 4) 福田正夫: 1995. 農業技術大系. 花き編. **6** キク (クリサンセマム). 農山漁村文化協会: 343.
- 5) 古谷 博: 1992. キク花卉培養による多芽体形成と植物体再生. 広島農技セ研報. **55** : 133-143.
- 6) 秀田章人・掘本圭一・荒井 滋: 1994. キクの培養法改善による低コスト種苗生産. 奈良農試研報. **25** : 32-33.
- 7) Jaacov, J. B. and R. W. Langhans: 1972. Rapid multiplication of *Chrysanthemum* plants by stem-tip proliferation. Hort Science. **7**(3): 289-290.
- 8) 仮屋崎義友・田畑耕作・内園正昭: 1996. 電照ギク「秀芳の力」から選抜した優良系統の特性. 鹿児島農試研報. **25** : 27-32.
- 9) 古賀正明・中原隆夫・近藤秀和: 1993. 苗条原基利用によるキク「秀芳の力」の大量増殖. 福岡農総試研報. **B12** : 31-34.
- 10) 近藤英和・小林泰生: 1989. キクの苗条原基利用による大量増殖. 第1報 苗条原基の作出と再分化. 九州農業研究. **51** : 208.
- 11) Murashige, T and F. Skoog: 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. **15**: 473-497.
- 12) 大石一史・米村浩次・大須賀源芳: 1986. 電照ギク“秀芳の力”の茎頂培養株の生産力及び優良系統の選抜. 愛知農総試研報. **18** : 168-172.
- 13) Sangwan, R. S., Detrez, C., Sangwan-Norreel, B. S.: 1987. In vitro culture of shoot-tip meristems in some higher plants. Acta Horticulturae. **212**(II): 661-666.
- 14) 庄子孝一・川村邦夫・高橋 伸: 1980. 園芸作物の無病苗育成・増殖に関する研究. 宮城原種苗研報. **1** : 1-52.
- 15) 谷口研至・田中隆荘: 1990. 苗条原基の誘導—その理論と方法. 誠文堂新光社. バイオホルティ **6** : 9-13.
- 16) 山口 隆: 1979. キクの無病苗生産に関する諸問題(2). 農及園. **54**(2): 91-95.

Development of Rapid Mass Propagation of Chrysanthemum by Shoot Tip Culture for Superior Mother Plants cv. ‘Shuho-no-Chikara’

1. Mass Propagation by Multiple Shoots

Hiroshi FURUYA

Summary

A procedure for rapid multiplication of *Chrysanthemum morifolium* cv. ‘Shuho-no-Chikara’ by shoot tip culture techniques was developed.

1. Shoot tips were cultured in vitro in the MS liquid medium which contained various combinations of plant growth regulators.
2. Suitable concentrations of plant growth regulators in MS liquid medium were 0.2mg/l BA and 0.02 mg/l NAA. The induced multiple shoots could be divided into three to four mass in 10 mm diameter after 45 days rotating culture.
3. Transplanted multiple shoots in the same liquid medium were increased about seven mass times after 30 days subculture.
4. Transferred multiple shoots on to MS solid medium containing 0.2 mg/l BA alone were also increased about four mass times after 30 days subculture.
5. Shoots regenerated upon transferring the multiple shoots on to the hormone free MS solid medium with 1.5% sucrose. The regenerated shoots were increased by the aeration culture.
6. It was estimated that about 240 plantlets could be produced in a 130 days culture from one shoot tip.
7. This technique will be useful for rapid mass propagation of superior mother clones in Chrysanthemum.

Key Word : *Chrysanthemum morifolium*, shoot tip culture, rapid mass propagation, multiple shoots