

ワラビの組織培養

鹿児島県林業試験場 田中郁太郎

1. はじめに

ワラビは山野に自生するシダの一種で、昔から春の野菜の一つとして食用に供されてきたが、最近では温室等を利用した栽培も行われるようになってきた。

栽培が盛んになるにつれて、形態・色彩等も取引の一要素となり、栽培法の工夫とともに、品種も注目されるようになってきた。しかし、ワラビは野生種で、かつシダ植物のため、野菜の種苗のように流通経路により販売されることなく、優良品種の苗の入手等も簡単に出来ないことが多い。

そこで、組織培養技術による大量増殖法を検討した。組織培養によるワラビの増殖に関する研究は、1960年代、whittier等によりコウヤワラビ等で試みられ、胞子から植物体を再生している¹⁾。

日本では、葉柄・根端を培養し、カルス形成を試みた例があり、未展開葉の一部からカルスを誘導した報告がみられる²⁾。今回、紫系ワラビの葉片を材料とし、カルス経路による植物体の再生を試みたので報告する。

2. 材料と方法

(1) カルス化

実験に供した材料は、当场苗畑で1992年5月中旬にワラビの葉の先端部の未展開部分を採取した。滅菌処理は、中性洗剤で洗浄後、アンチホルミン5%液で10分間回転による滅菌を行った。その後滅菌水で1回洗浄し、1週間寒天のみの培地で培養し、材料のスクリーニングを行った後、カルス分化の培地へ置床した。

分化培地は1/2クノップ培地に、MS培地の有機物のみを1/2量としたものを加え、さらに1.5%ショ糖を加えたものを基本培地とし、これにNAAを0, 0.01, 0.1 mg/l, BAを0, 0.01, 0.1 mg/lを組み合わせて添加し、pHを5.8に調整した後、寒天8g/lを加えた、培養環境は23±2℃, 3000Lux, 16時間日長とした。

(2) カルスの増殖

1/2クノップ培地で形成されたカルスは、同培地で

も増殖するが、増殖率が低い。そこで増殖率を高めるために、MS培地で増殖培養を試みた。増殖培地は、MS培地と、無機成分のみを1/2とした1/2MS培地を基本培地とし、BAを0, 0.1, 0.5, 1.0 mg/l加えた。培地はショ糖を30g/l添加した後、pHを5.8に調整し寒天8g/lを加えた。培養環境は(1)と同じである。

(3) 植物体の再生

植物体の再生には、クノップ培地を基本培地とし、1/2クノップおよび1/4クノップの3種類の培地で継代培養を行なった。この継代培地のpHを5.8に調整した後、寒天8g/lを添加した。培養環境は(1)と同じである。

3. 結果および考察

(1) カルス化

カルス化の結果を表-1に示した。カルスの形成がみられたのは4個体のみで、全個数の約4%ときわめて低い脱分化率である。カルス化にBAの効果が考えられるが、脱分化個数が少ないため断言は出来ない。

今回の実験では材料の生存率も低く、全体の50%である。アンチホルミンだけによる滅菌はこのようにコンタミネーション率が高く、カルス化率低下の一因ともなっている。寒天培地によるスクリーニングも、材料が未展開葉のため、コンタミネーションの発生が遅く、効果も完全ではない。滅菌法の検討も今後の課題である。

(2) カルスの増殖

カルスを約3mm²づつ増殖培地への置床し、114日培養した結果を表-2に示した。培地別にみると、BAの無添加では、MSと1/2MSの間に量的な差は見られないが、BAを添加すると1/2MS培地では、約25%の減量となり、若干ではあるが濃度が高くなると増殖率が低下する。MS培地では、0.1mg/lの添加が最も増殖率が高かったが、バラツキも大きいため、BAの効果とは断定は出来ない。むしろ0.5, 1.0mg/lと、高濃度の添加になると増殖率が低下するため、BAの添加は

好ましくないと考えられる。

(3) 植物体の再生

1/2MS培地で増殖したカルスを、約5mm²づつ再分化培地へ置床し、150日培養した結果を表-3に示した。カルスを再分化培地へ移して約30日で植物体の再分化が始まった。1/4クノップ培地は、他の培地と比較して明らかに劣り、再分化したカルスの個数は、さほどかわらぬものの、植物体の成長は貧弱で、また葉茎の黄色から褐色を帯びたものである。

これに対して、クノップおよび1/2クノップ培地の

間には、さほどの差はみられず、1/2クノップの再分化した株数がわずかに少ないものの、大きさ、色ともほとんど変わらなかった。再分化培地として1/2クノップで十分であると思われる。写真-1はカルスから再分化した植物体である。

参考文献

- (1) 植物組織培養法, pp. 280, 誠文堂新光社, 東京, 1968
- (2) 農業技術, 46(6), 42~46, 1991

表-1 カルス化

NAA	BA	供試切片数	カルス化切片数	残存葉切片数	汚染切片数
mg/ℓ	mg/ℓ				
0	0	10	0	6	4
	0.01	10	1	6	3
	0.1	10	1	4	5
0.01	0	10	0	6	4
	0.01	10	0	4	6
	0.1	10	0	3	7
0.1	0	10	0	4	6
	0.01	10	1	3	6
	0.1	10	1	3	6

表-2 カルスの増殖試験

培地	BA	平均体積	標準偏差	変動係数
	mg/ℓ	cm ³		%
1/2MS	0	10.2	1.58	15.5
	0.1	7.7	0.66	8.6
	0.5	7.6	0.86	11.3
	1.0	7.4	1.27	17.1
MS	0	10.4	1.50	14.1
	0.1	10.9	1.14	10.4
	0.5	9.1	1.01	11.1
	1.0	9.3	1.36	14.7

表-3 植物体の再分化調査

培地	培養切片数	再分化切片数	平均株数 (本/切片)	平均高 (cm)
C 1	5	4	3.8	6.3
C 2	5	4	2.0	6.3
C 3	5	4	2.7	3.7

注) 培地 C 1 … クノップ培地
C 2 … 1/2クノップ培地
C 3 … 1/4クノップ培地

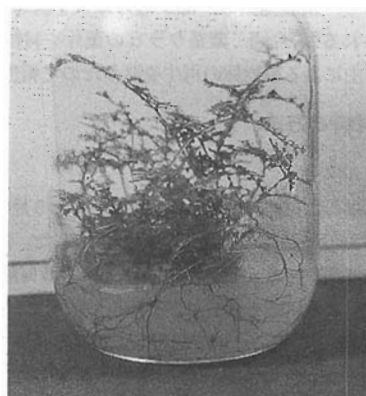


写真-1 カルスより再分化したワラビ
培養条件: クノップ培地, 23 ± 2℃, 3000lux, 150日間