

側芽培養によるアスパラガス新品種の新種苗生産

鈴木芳成*

Original Seedling Production of a New Asparagus Cultivar by Lateral Bud Culture

Yoshinari SUZUKI *

Abstract

This study examined efficient methods for producing stock seed seedlings of a new asparagus cultivar in particular, methods for forming roots from parental shoots and for forming brood buds and storage roots suitable for acclimation. Shoots from the rooting '9307', '9701', '0117' and '0120' were used as parents for hybridization.

Shoot explants without leaf development were cultured on MS medium containing 5.0 μ M ~ 8.0 μ M ancyimidol, 10.0 μ M IBA, 0.5 μ M kinetin, 3 % sucrose and 0.8 % gelrit for one month and were subsequently cultured in 1/2 strength MS medium. This method resulted in optimal root formation, but the rates of root formation differed among the genealogical used.

Shoot apices without leaf development were suitable as explants for root formation.

The rooted seedlings successfully formed brood buds and storage roots by being subcultured every one month or two months. However, the seedling of '0120' secreted white material in the surroundings of its base and roots, and its survival rate decreased.

Growth of the '0120' seedlings subcultured in the medium with added active carbon was inferior to that on the medium without added active carbon. Also, the formation rate of brood buds and storage roots from the '0120' seedlings was low.

The '0120' seedlings subcultured in the medium containing polyvinylpyrrolidone at 0.5g/l and 1.0g/l formed brood buds and storage roots at high rates.

More than 70 % of the '9307' and '9701' seedlings that formed brood buds and storage roots grew to be stock seedlings. Meanwhile, more than 60 % of the '0117' and '0120' seedlings that formed brood buds and storage roots grew to be stock seedlings.

Key Words: Asparagus, lateral bud culture, rooting, brood bud, storage roots

キーワード: アスパラガス、側芽培養、発根、鱗芽、貯蔵根

1 緒言

アスパラガスは雌雄異株で他殖性であり、自殖系統を作ることとはほとんど不可能である。そのため近年では多収で品質が揃った品種の育成を目指して、組織培養で増殖した均一な形質の雄株および雌株のクローン集団を両親として用いるいわゆる一代雑種

育種が盛んになっている。

本県では、アスパラガス産地の維持および拡大のために、1990年からアスパラガス新品種の育成に着手し、2004年に、品質に優れ、収量性が高い全雄品種「ハルキタル」と、草勢が強く、収穫若茎が太い雌雄混合品種「春まちグリーン」の2品種を育成し¹⁵⁾、2007年には紫アスパラガス優良品種「はる

むらさきエフ'を育成した¹²⁾。これらの品種は全て一代雑種であり、新品種の普及を図るためには種子を生産するための親株のクローン（以下、原種苗と記す）を大量に増殖する必要があった。

組織培養によるアスパラガスの増殖方法は、側芽から大量のシュートを発生させて植物体を再生する側芽培養法^{1, 2, 3, 4, 7, 13, 20)}、カルスから不定胚を形成して植物体を再生する方法^{5, 6, 11)}の二つが主なものとなっている。このうち、不定胚形成法は倍数性変異^{6, 11)}が報告されており、培養変異の可能性が高いことから、本県ではアスパラガスの交配母本や優良系統の増殖には側芽培養法を利用してきた。しかし、側芽培養法はシュートの増殖は比較的容易だが、シュートからの発根が不安定であり、育成した幼植物も順化中に枯死するなどの問題がある。

アスパラガス新品種原種苗生産は2004年から始まったが、現地からの要望が高い‘ハルキタル’の原種苗の生産が困難な状況にあった。また、今後、育成される新品種の迅速な普及を図るためには、早急に原種苗の生産体制を整える必要があった。

本研究では、アスパラガス新品種原種苗を効率的に生産するため、シュートからの発根条件と順化に適する鱗芽および貯蔵根を形成した原種苗を育成するための培養条件を検討したのでその結果を報告する。

2 試験方法

(1) 発根培養試験

A 材料

温室に保存されている‘ハルキタル’の交配親である優良雌株‘9307’ (2n=20) および超雄株‘9701’ (2n=20)、『はるむらさきエフ’の交配親である優良雌株‘0117’ (2n=40) および優良雄株‘0120’ (2n=40) の若茎 (約10cm) を2005年9月に採取し、中性洗剤を加えた水道水で洗浄した後、頂部約3cmを切り取り、70%エタノールに30秒間、次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素1%、Tween20数滴添加) に15分間浸漬して表面殺菌を行い、滅菌水で3回洗浄した。洗浄後、若茎頂部のりん片葉を取り除き、2~5mmの長さの小側枝を無菌的に切り出して、0.5 μ M NAA、0.5 μ M BA、2.0 μ M アンシミドールを添加したMS培地 (3.0% ショ糖、1.0% 寒天、pH6.0、試験管に10ml注入) に置床し、温度25 $^{\circ}$ C、照度2,000lux、18時間照明の条件下で培養した。培養1ヶ月後、伸長してきたシュートを節毎に分割し、同組成の培地 (ふたに直径約10mmの穴を空けフ

ィルタ孔径0.45 μ mのテフロン製無菌通気膜を貼り付けたプラントボックスに70ml注入) で1ヶ月毎に増殖培養を行い、増殖した葉未展開シュートを材料とした。

B 方法

基本培地はMS培地または1/2MS培地とし、特に記さない限り、3.0%ショ糖、0.2%ゲルライト、pH6.0とした。培養は、特に記さない限り、ふたに直径約10mmの穴を空けてフィルタ孔径0.45 μ mのテフロン製無菌通気膜を貼り付け、培地を70ml注入したプラントボックスを使用し、温度25 $^{\circ}$ C、照度2,000lux、18時間照明条件下で行った。

(A) 発根に適したアンシミドール濃度の検討

シュートからの発根については、アンシミドールによる発根促進効果が報告され^{3, 4, 8)}、比較的安定した結果が得られていることから、本県育成品種の交配親4系統について、発根に適したアンシミドールの濃度を検討した。

MS培地 (10.0 μ M IBA、0.5 μ M カイネチン、0.8%ゲルライト) にアンシミドールを2.0、5.0、8.0 μ M添加した区を設け、増殖培地移植後約3週間経過し、10本程度シュートが伸長した葉未展開シュート株をシュートが3~5本となるように分割 (株分け) して培地に置床し、1ヶ月間培養した。その後、シュートを1/2MS培地に移植し培養を行った。なお、アンシミドール等の成長調節物質を添加したMS培地で1ヶ月培養したシュートの中で、切断部に形成したカルスから透明根が発生した個体については、浦上ら¹³⁾の報告を参考に、ろ紙を敷いた9cmシャーレで2日間乾燥処理を行って白色根を誘導した後、1/2MS培地に移植した。

試験は2006年5月から開始し、1/2MS培地への移植10、30、60日後に発根率を調査した。

(B) 発根に適した培養部位の検討

シュートからの発根について、10本程度シュートが伸長した葉未展開シュート株をシュートが3~5本となるように分割して発根培養の材料とした。しかし、発根率の低い系統が認められたことから、他の培養部位として、遠藤ら¹⁾や十鳥³⁾が報告している葉未展開シュート頂部の培養適性について検討した。

増殖培地移植後約3週間経過した本県育成品種の交配親4系統の葉未展開シュートの頂部2mmと3~5本毎に分割したシュートを、MS培地 (5.0 μ M アンシミドール、10.0 μ M IBA、0.5 μ M カイネチン、0.8%ゲルライト) に置床し、1ヶ月間培養した

後、1/2MS培地に移植し培養を行った。なお、アンシミドール等の生長調節物質を添加したMS培地で1ヶ月培養したシュートの中で、切断部に形成したカルスから透明根が発生した個体については、ろ紙を敷いた9cmシャーレで2日間乾燥処理を行って白色根を誘導した後、1/2MS培地に移植した。

試験は2007年5月から開始し、1/2MS培地への移植10、30、60日後に発根率を調査した。

(2) 鱗芽および貯蔵根形成試験

A 材料

1/2MS培地で約2ヶ月培養し、根およびシュートの生育が旺盛な本県育成品種の交配親4系統の幼植物を材料とした。

B 方法

基本培地および培養方法は、特に記さない限り(1)と同じとした。

(A) 継代間隔の検討

生育良好な幼植物を順化してもほとんど枯死し、原種苗生産が困難な状況の中、発根後も順化せずに培養を続けた‘9307’の幼植物の中から、これまで形成されていた根と明らかに形態が異なり、カルスからではなく幼植物の基部に形成した芽から直接伸長している太い白色根(図1)が確認された。これは、八鍬ら²⁰⁾の報告にある鱗芽および貯蔵根を形成したアスパラガスの幼植物に酷似していた。そこで、鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物を育成するため、発根後も継続して培養することを試みた。なお、プラントボックス内の培地は3~4ヶ月経過すると幼植物に吸収されてしまうことから、培地が減少する毎に新たな培地に継代して培養を継続した。当初、継代する際には、幼植物をそのままの状態でも継代していたが、作業に手間がかかりすぎることやコンタミネーションし易いことから、カルスおよび根は全て切除し、シュートは基部から2~3cm残して切除して継代を行った。このように、継代を繰り返しながら培養を継続したところ、徐々に鱗芽および貯蔵根を形成する幼植物が増えてきたことから、鱗芽および貯蔵根の形成を促すための継代方法について検討した。

幼植物を1ヶ月毎、2ヶ月毎、3ヶ月毎に1/2MS培地に継代し、8ヶ月間培養を行った。なお、鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物は容器から取り出して順化し、鱗芽および貯蔵根を形成しない幼植物のみ、新たに伸長したシュートを基部から2~3cm残して切除して継代した。

試験は2006年7月から開始し、継代1回目より1ヶ月毎に鱗芽および貯蔵根の形成率を調査した。

(B) ‘0120’における培地添加物の種類および添加量の検討

‘はるむらさきエフ’の花粉親‘0120’は、培養期間が長くなると枯死する幼植物が増加し、鱗芽および貯蔵根の形成率が低くなった。その際、培地中の基部や根の周辺に白濁した分泌物(以下、白濁物質と記す)が認められた。そこで、幼植物の生存率を高めるため、培養体が分泌する有害物質を吸着させることが知られている活性炭とフェノール物質を吸着するポリビニルピロリドン(酸化防止剤)の添加効果について検討した。

1/2MS培地に活性炭を0、0.5、2.5、5.0g/l添加した区を設け、2ヶ月毎に継代培養を行った。また、1/2MS培地にポリビニルピロリドンを0、0.5、1.0、1.5、2.0g/l添加した区を設け、2ヶ月毎に継代培養を行った。

活性炭添加試験は2008年に、ポリビニルピロリドン添加試験は2009年に実施し、継代1回目より、1ヶ月毎に鱗芽および貯蔵根の形成率、白濁物質の分泌状況(白濁物質を分泌した個体の割合)を調査した。

(3) 原種苗の生産状況

A 材料および方法

2004年から2007年のアスパラガス原種苗生産の実績に基づき、生産状況を取りまとめた。2004年から2005年については、1/2MS培地への移植後、1ヶ月程度培養した後に、根およびシュートの生育が旺盛な‘9307’および‘9701’の幼植物をバーミキュライトを入れた128穴セルトレイに植え、温度25℃、照度2,000lux、18時間照明条件の人工気象器内において、密閉容器で高湿度状態を保った後、ふたを徐々にずらしながら外環境に慣らし、さらに人工気象器内で育成しながら活着を促した。

2006年から2007年については、鱗芽および貯蔵根を形成した‘9307’および‘9701’、‘0117’、‘0120’の幼植物をバーミキュライトを入れたポリポットに植え、自然光、温度25±5℃の温室内において密閉容器で1週間程度高湿度状態を保った後、ふたを徐々にずらしながら外環境に慣らしていった。

順化を終了し、採種ほ場に定植できる状態まで生育したもの(茎数3本以上、草丈30cm以上)を原種苗とした。

3 試験結果

(1) 発根培養試験

A 発根に適したアンシミドール濃度の検討

アンシミドールを添加したMS培地で1ヶ月培養したシュートは、切断面にカルスのみ形成したものやカルスから白色根や透明根が発生したシュートが認められた。透明根が発生したシュートについては、乾燥処理することで正常な白色根となり、1/2MS培地に移植後も正常に伸長した。また、系統により差はあるものの、カルスのみ形成したシュートを1/2MS培地に移植すると、カルスから根が発生し正常に伸

長した(図2)。

表1に示すように、全ての区でシュートからの発根が認められ、発根したシュートのほとんどは1/2MS培地への移植10日後までに発根が始まった。

1/2MS培地に移植60日後の発根率は、'9307'および'9701'では、5.0 μ M アンシミドール添加区において96.1%および76.3%と最も高く、'0120'では8.0 μ M アンシミドール添加区において90.0%と最も高かった(表1)。しかし、5.0 μ M添加区と8.0 μ M添加区では、発根率に大きな差は認められなかった。また、'0117'はいずれの区においても発根率が低かった(表1)。

表1 シュートからの発根におよぼすアンシミドール濃度の影響

供試 系統名	アンシミドール 濃度(μ M) ^z	供試数	1/2MS培地移植後の発根率(%) ^y		
			10日後	30日後	60日後
9307	2.0	51	88.2	92.2	92.2
	5.0	51	94.1	96.1	96.1
	8.0	56	87.5	89.3	89.3
9701	2.0	63	34.9	44.4	44.4
	5.0	76	69.7	76.3	76.3
	8.0	72	50.0	58.3	58.3
0117	2.0	100	16.0	18.0	18.0
	5.0	100	34.0	35.0	35.0
	8.0	85	36.5	41.2	41.2
0120	2.0	50	74.0	76.0	76.0
	5.0	50	74.0	88.0	88.0
	8.0	50	82.0	90.0	90.0

z : 10.0 μ M IBAおよび0.5 μ M カイネチン、0.8% ゲルライトを含むMS培地に所定の濃度のアンシミドールを添加し、葉未展開シュートを1ヶ月間培養した

y : 発根率 = 発根個体数 / 供試数 \times 100

B 発根に適した培養部位の検討

アンシミドールを添加したMS培地で1ヶ月培養したシュート頂上部は、切断面にカルスのみ形成したものやカルスから白色根や透明根が発生したシュートが認められた(図3)。

1/2MS培地に移植60日後の発根率は、いずれの系統においても、葉未展開シュート頂上部を培養した区が80%以上と高く、葉未展開シュートを培養した区と同等か高い傾向にあった(表2)。

(2) 鱗芽および貯蔵根形成試験

A 継代間隔の検討

鱗芽および貯蔵根の形成は全ての区で認められた。8ヶ月後の鱗芽および貯蔵根の形成率は'9307'では2ヶ月毎に継代を行った区において96.2%、'9701'および'0117'では1ヶ月毎に継代を行った区において62.7%、73.4%と最も高くなり、3ヶ月毎に継代を行った区においてはいずれも低かった(表3)。また、'0120'は1/2MS培地へ移植後4ヶ月を経過した時期から培地中の基部や根の周辺に白濁物質が認められ(図4)、6ヶ月以降、生育が抑制され枯死する幼植物が増加したため試験を中止した。なお、白濁物質が発生した幼植物は、新たな培地に継代してもすぐに白濁物質が認められた。

表2 培養部位の違いによる発根状況

供試 系統名	培養部位 ^z	供試数	1/2MS培地移植後の発根率 (%) ^w		
			10日後	30日後	60日後
9307	葉未展開シュート頂部 ^y	36	83.3	83.3	83.3
	葉未展開シュート ^x	26	80.8	80.8	80.8
9701	葉未展開シュート頂部 ^y	25	80.0	80.0	84.0
	葉未展開シュート ^x	28	67.9	82.1	85.7
0117	葉未展開シュート頂部 ^y	50	78.0	86.0	88.0
	葉未展開シュート ^x	50	16.0	18.0	18.0
0120	葉未展開シュート頂部 ^y	25	72.0	76.0	88.0
	葉未展開シュート ^x	28	71.4	71.4	71.4

z : 5.0 μM アジミトールおよび10.0 μM IBA、0.5 μM カイネチン、0.8% ケルライトを含むMS培地で各部位を1ヶ月間培養した

y : 葉未展開シュートの頂部茎端約2mm

x : 3~5本毎に分割した葉未展開シュート

w : 発根率 = 発根個体数 / 供試数 × 100

表3 鱗芽および貯蔵根形成におよぼす継代間隔の影響

供試 系統名	継代 ^z 間隔	供試数	鱗芽および貯蔵根形成率 (%) ^y							
			1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後	5ヶ月後	6ヶ月後	7ヶ月後	8ヶ月後
9307	1ヶ月毎	102	0.0	2.9	9.8	35.3	48.0	62.7	69.6	78.4
	2ヶ月毎	104	0.0	0.0	2.9	18.3	43.3	50.0	85.6	96.2
	3ヶ月毎	64	0.0	0.0	0.0	9.4	25.0	32.8	50.0	60.9
9701	1ヶ月毎	83	0.0	0.0	0.0	13.3	39.8	56.6	62.7	62.7
	2ヶ月毎	79	0.0	0.0	2.5	7.6	15.2	17.7	21.5	34.2
	3ヶ月毎	81	0.0	0.0	0.0	14.8	17.3	25.9	28.4	28.4
0117	1ヶ月毎	94	0.0	4.3	12.8	22.3	34.0	43.6	57.4	73.4
	2ヶ月毎	96	0.0	0.0	11.5	21.9	29.2	30.2	33.3	44.8
	3ヶ月毎	66	0.0	0.0	1.5	9.1	13.6	22.7	28.8	28.8
0120	1ヶ月毎	80	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	10.0	— ^x	— ^x
	2ヶ月毎	81	0.0	0.0	1.2	4.9	6.2	8.6	— ^x	— ^x
	3ヶ月毎	58	0.0	0.0	1.7	10.3	15.5	25.9	— ^x	— ^x

z : カルスおよび根は全て切除し、シュートは基部から2~3cm残して切除した幼植物を1~3ヶ月毎に継代した

y : 鱗芽および貯蔵根形成率 = 鱗芽および貯蔵根形成個体数 / 供試数 × 100

x : 培地中の基部や根の周辺に白濁物質が認められ枯死する幼植物が増加したため試験を中止した

B '0120'における培地添加物の種類および添加量の検討

活性炭添加区における幼植物の生育は、無添加区に比べて劣り、枯死する個体が増加した。また、活

性炭添加区は無添加区に比べ、鱗芽および貯蔵根の形成率が低かった(表4)。しかし、活性炭添加区は無添加区に比べ、白濁物質が認められた幼植物の割合は少なかった(表5)。

表4 鱗芽および貯蔵根形成におよぼす活性炭の影響

活性炭添加量 (g/l)	供試数 ^z	鱗芽および貯蔵根形成率 (%) ^y				
		1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後	5ヶ月後
0.0	40	0.0	0.0	16.7	25.0	33.3
0.5	49	0.0	0.0	0.0	3.3	3.3
2.5	46	0.0	0.0	0.0	1.7	1.7
5.0	39	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

z : '0120' を供試した

y : 鱗芽および貯蔵根形成率 = 鱗芽および貯蔵根形成個体数 / 供試数 × 100

表5 活性炭添加培地における白濁物質の分泌状況

活性炭添加量 (g/l)	供試数 ^z	白濁物質分泌個体の割合 (%) ^y				
		1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後	5ヶ月後
0.0	40	0.0	66.7	73.3	73.3	90.0
0.5	49	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0
2.5	46	0.0	0.0	3.3	5.0	10.0
5.0	39	0.0	0.0	3.3	6.7	42.0

z : '0120' を供試した

y : 白濁物質分泌個体の割合 = 白濁物質を分泌した個体数 / 供試数 × 100

鱗芽および貯蔵根形成率は、無添加区に比べポリビニルピロリドン0.5g/lおよび1.0g/l添加区で70%以上と高くなったが、ポリビニルピロリドン1.5g/lおよび2.0g/l添加区では無添加区と同程度だった(表6)。また、ポリビニルピロリドン0.5g/lまた

は1.0g/l添加区は無添加区に比べ白濁物質が認められた幼植物の割合は同程度だったが、ポリビニルピロリドン1.5g/lまたは2.0g/l添加区では80%以上と高かった(表7)。

表6 鱗芽および貯蔵根形成におよぼすポリビニルピロリドン (PVP) の影響

PVP添加量 (g/l)	供試数 ^z	鱗芽および貯蔵根形成率 (%) ^y					
		1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後	5ヶ月後	6ヶ月後
0.0	20	0.0	5.0	27.5	42.5	47.5	57.5
0.5	20	0.0	2.5	32.5	65.0	70.0	85.0
1.0	20	0.0	10.0	42.5	55.0	62.5	75.0
1.5	20	0.0	2.5	25.0	40.0	50.0	60.0
2.0	20	0.0	2.5	25.0	40.0	47.5	57.5

z : '0120' を供試した

y : 鱗芽および貯蔵根形成率 = 鱗芽および貯蔵根形成個体数 / 供試数 × 100

表7 ポリビニルピロリドン (PVP) 添加培地における白濁物質の分泌状況

PVP添加量 (g/1)	供試数 ^z	白濁物質分泌個体の割合 (%) ^y					
		1ヶ月後	2ヶ月後	3ヶ月後	4ヶ月後	5ヶ月後	6ヶ月後
0.0	20	0.0	0.0	0.0	0.0	27.5	47.5
0.5	20	0.0	0.0	2.5	5.0	20.0	30.0
1.0	20	0.0	0.0	0.0	5.0	30.0	42.5
1.5	20	0.0	0.0	5.0	20.0	57.5	82.5
2.0	20	0.0	0.0	0.0	20.0	70.0	97.5

z : '0120' を供試した

y : 白濁物質分泌個体の割合 = 白濁物質を分泌した個体数 / 供試数 × 100

(3) 原種苗の生産状況

根およびシュートの生育は旺盛だが、鱗芽および貯蔵根を形成していない '9307' および '9701' の幼植物 (図5) は、順化中や順化後枯死するものが多く、原種苗までに生育したのは10%程度だった。

しかし、鱗芽および貯蔵根を形成 (図6) した '9307' および '9701' の幼植物では70%以上が、'0117' および '0120' の幼植物では60%以上が原種苗までに生育した (図7、表8)。

表8 アスパラガス原種苗の生産状況^z

供試 系統名	鱗芽および貯蔵根 形成の有無	順化数	原種苗数 ^y	生存率 ^x (%)
9307	有	509	409	80.4
	無	251	30	12.0
9701	有	255	197	77.3
	無	177	19	10.7
0117	有	346	229	66.2
0120	有	60	41	68.3

z : 2004年から2007年のアスパラガス原種苗生産の実績

y : 茎数3本以上、草丈30cm以上を原種苗とした

x : 生存率 = 原種苗数 / 順化数 × 100

4 考察

アスパラガスの側芽培養法におけるシュートからの発根は様々な方法が試みられてきたが、上曾山⁴⁾や松原ら⁸⁾は、それぞれ用いた培地に5.0 μM アンシミドールを添加することで発根率が高まったと報告している。本研究では、5.0 μM または8.0 μM アンシミドールの添加で発根率が高く、上曾山や松原らが報告しているアンシミドール濃度とはやや異なるが、発根に適するアンシミドール濃度は、5.0 μM ~ 8.0 μM が適当であると考えられた。

本研究では、アンシミドール等の生長調節物質を含むMS培地で培養したシュートの約半数は、カルスの形成のみで根の発生は認められなかったが、1/2MS培地に移植することで発根が始まった。原田²⁾や八鍬ら²⁰⁾は、生長調節物質を含む培地上で長期間培養を継続するより、最初に適量の生長調節物質を取り込ませた後、生長調節物質を含まない培地に移植

して培養したほうが根の分化率が高いと報告している。本研究での結果は、原田や八畝らの報告と同様に、生長調節物質を含むMS培地で培養することで、シュートに生長調節物質が取り込まれ、1/2MS培地移植後に発根が始まったと考えられた。

発根培養に用いる部位として、若茎頭部の小側枝を培養して発生した葉未展開シュートの頂部、節部切片、そして、10本程度伸長したシュートを3～5本毎に株分けしたシュート株等が用いられている。本研究では、当初、3～5本毎に株分けしたシュート株を材料としたが、系統により発根にバラツキが認められた。そのため、遠藤ら¹⁾や十鳥³⁾が発根率の高い部位として報告している葉未展開シュートの頂部を供試したところ、4系統とも発根率が80%以上と高く、安定した結果が得られた。これは、シュート株に比較して、シュート頂部は生長点が多数存在し、若い細胞が多いため、アンシミドール等の生長調節物質を取り込みやすく、生長調節物質が効果的に作用したと考えられた。

アスパラガスの側芽培養法は、シュートの増殖が比較的容易なため、シュートからの発根率を高める研究が数多く行われてきた。しかし、原田²⁾や八畝ら²⁰⁾は、アスパラガスの完全植物体の再生には、ただ単に茎と根の発生率を高めるだけではなく、鱗芽群を持った地下茎ができ、その下部から白色根(貯蔵根)が発生する必要があると述べている。このことについて、遠藤ら¹⁾は、発根した幼植物が完全な植物体になるまで温度および湿度を適環境に制御する期間を長くするかまたは順化に用いる苗の品質向上が必要であると述べている。しかし、筆者が育成した根およびシュートの生育が旺盛な幼植物は、温度および湿度を管理して順化したにもかかわらず順化中にほとんど枯死した。そのような状況の中で、培養を続けた‘9307’の中に鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物が認められ、順化後も枯死せず成長を続けた。

そこで、培養過程で鱗芽および貯蔵根の形成を確認した後順化することで生存率が高まると考え、培養容器内での鱗芽および貯蔵根形成方法について検討を加えた。その結果、発根した幼植物を1ヶ月または2ヶ月毎にホルモンフリーの1/2MS培地で継代培養することで、鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物が増加することが明らかとなった。

鈴木ら¹³⁾や渡辺ら¹⁹⁾は、アスパラガスの節部切片を液体窒素で凍結処理することにより貯蔵根様白色根の形成率が高まったと報告しているが、その理由として、凍結および融解に伴う脱水ストレス等が原

因で細胞の遺伝子発現が変化した可能性があるとして述べている。本研究においては、継代培養時の幼植物のカルスおよび根、シュートの切除がストレスとなって遺伝子発現が変化し、本来シュートのみ伸長する節部の成長点が鱗芽および貯蔵根に変化したのではないかと考えられた。また、発根を促すために取り込んだ生長調節物質が、ホルモンフリーの培地で培養することで徐々に消失し、鱗芽および貯蔵根が形成されやすくなった可能性も考えられた。なお、これらの調査打ち切り後も、鱗芽および貯蔵根を形成する幼植物は増えており、継代培養を繰り返せばさらに形成率は高くなると予想された。

‘はるむらさきエフ’の花粉親‘0120’は、継代を続け長期間培養すると枯死する幼植物が増加し、鱗芽および貯蔵根の形成率が低くなった。その際、培地中の基部や根の周辺に白濁物質が発生したが、この現象は、‘0120’の増殖培養を行う際にも認められた。鈴木ら¹⁴⁾や園田ら¹⁶⁾は、様々なアスパラガス系統の増殖培養においてシュートの増殖に差が認められ、生育が抑制される系統は培養物が培地のpHを下げる物質を分泌しているためと述べている。このことから、‘0120’の生育阻害は培地中に何らかの生育阻害物質が分泌されるためであることが推察された。しかし、鈴木らや園田らの報告では生育阻害物質の成分までは言及しておらず、また‘0120’の白濁物質のように肉眼で確認できるものではなかった。

アスパラガスは改植時の連作障害の要因の一つに、アスパラガスが自ら分泌するアレロパシー物質の存在^{9, 10, 17)}が指摘され、土屋は¹⁷⁾根から分泌するフェノール性物質によって自身の生育阻害を引き起こす可能性を示唆している。このことから、‘0120’の培養中に、生育が抑制されて枯死する現象は、‘0120’が培地中に何らかのアレロパシー物質を分泌していることが原因ではないかと推察した。そこで、培地中の生育阻害物質を除去し、幼植物の生存率を高めるため、培養体が分泌する有害物質を吸着させることが知られている活性炭とフェノール物質を吸着するポリビニルピロリドンの添加効果について検討した。

活性炭の添加は、幼植物の生育を抑制し、活性炭を添加しない場合よりも枯死する幼植物を増加させた。これは、活性炭が幼植物の生育に必要な養分を吸着したことや、継代の際根を切除したため、細胞が直接養分や水分を吸収していた幼植物が、培地中の活性炭によって養分や水分の吸収を妨げられたことなどが原因であると考えられた。また、活性炭添

加培地において、無添加培地に比べて白濁した分泌物が認められた幼植物の割合が少なくなったのは、培地中の活性炭が白濁物質を吸着したためと考えられた。

ポリビニルピロリドン0.5g/lまたは1.0g/lを培地に添加することで鱗芽および貯蔵根の形成率が高まったが、ポリビニルピロリドン1.5g/lまたは2.0g/l添加培地では無添加培地と同程度の形成率であった。このことから、培地へのポリビニルピロリドン添加は鱗芽および貯蔵根の形成を促進するが、添加量を増やしても形成率は向上せず、添加量は0.5g/l～1.0g/lが適していると考えられた。また、白濁物質が認められた幼植物の割合は、ポリビニルピロリドン無添加と比較して、0.5g/lまたは1.0g/l添加培地では同程度だったが、1.5g/lまたは2.0g/l添加培地では高かった。このことから、白濁物質は培地中のポリビニルピロリドンが吸着しない物質であり、幼植物の生育を阻害するアレロパシー物質ではない可能性が考えられた。

アスパラガスのアレロパシー物質はまだ特定されておらず、根の分泌物、クラウンや根の抽出物、根圏土壌抽出物から多数のアレロパシー候補物質が分離・同定されている。本研究で確認された白濁物質以外にも、様々な生育抑制物質が培地中に分泌されている可能性は高く、今後、アスパラガスの培養過程において、どのような物質を分泌し、生育抑制等に関与しているか分析することが必要であると考えられた。

育成したアスパラガスの幼植物を順化する場合、カビ等の発生を防ぐために根に付着した培地を取り除く必要がある。しかし、鱗芽および貯蔵根を形成していない幼植物の根は、細くて非常にもろいため、培地を取り除く際に脱落しやすかった。また、順化中に根やカルスが腐敗することにより、ほとんどの幼植物が枯死した。これは、カルスから発生した根が、原田²⁾が述べたような茎の組織とつながった状態にないためであると考えられた。一方、鱗芽から発生した貯蔵根は太く、多少無理に培地を取り除いてもほとんど脱落することなくしっかりとつながり、順化中に枯死する幼植物は少なかった。このように、培養過程で鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物は、簡易な順化方法でも活着は良好であった。

本研究により、アスパラガス側芽培養における発根培養培地や発根に適した培養部位、鱗芽および貯蔵根形成を高める手法が明らかとなり、原種苗の生産効率は飛躍的に向上した。しかし、鱗芽および貯

蔵根形成には個体差があり、原種苗を増やすためには長期間培養する必要があることから、多くの時間と労力を必要とする。今後、育成された新品種の普及を図るためには、側芽培養開始から採種までの期間をできる限り短縮する技術開発が必要と考えられる。

5 摘要

アスパラガス新品種の新種苗を効率的に生産するため、交配親である‘9307’、‘9701’、‘0117’、‘0120’について、シュートからの発根条件と順化に適する鱗芽および貯蔵根の形成条件を検討した。

- (1) シュートからの発根には、葉末展開シュートを $5.0\mu\text{M}$ ～ $8.0\mu\text{M}$ アンシミドールおよび $10.0\mu\text{M}$ IBA、 $0.5\mu\text{M}$ カイネチン、0.8%ゲルライトを含むMS培地で1ヶ月培養後、1/2MS培地に移植する方法が適していた。しかし、系統により発根率に差があった。
- (2) 発根培養に用いる部位は、葉末展開シュートの頂部が適していた。
- (3) 発根した幼植物を1ヶ月または2ヶ月毎に継代培養することで鱗芽および貯蔵根が形成された。しかし、‘0120’の幼植物は培地中の基部や根の周辺に白濁物質が認められ、生存率が低下した。
- (4) ‘0120’の幼植物を活性炭を添加した培地で継代培養したところ、活性炭無添加培地に比較して生育が劣り、鱗芽および貯蔵根形成率が低下した。
- (5) ‘0120’の幼植物をポリビニルピロリドン0.5g/lおよび1.0g/l添加した培地で継代培養したところ、鱗芽および貯蔵根形成率が高まった。
- (6) 鱗芽および貯蔵根を形成した‘9307’および‘9701’の幼植物は70%以上が原種苗までに生育した。また、鱗芽および貯蔵根を形成した‘0117’および‘0120’の幼植物は、60%以上が原種苗までに生育した。

謝辞

本研究の実施に当たり、福島県農業総合センター作物園芸部品種開発科佐藤博志前科長ならびに佐久間秀明科長より貴重なご意見、ご指導を賜った。また、本研究の遂行に当たり、同科仁井智己氏ならびに松崎正三氏のご協力をいただいた。各位に厚く

お礼申し上げます。

引用文献

- 1) 遠藤柳子・庄子孝一. 1992. アスパラガスの組織培養における発根及び順化方法の改善. 宮城農セ研報 58 : 25-36
- 2) 原田隆. 1989. アスパラガス (*Asparagus officinalis* L.)組織からの器官形成とその利用に関する研究. 北大農邦文紀 16(4) : 301-346.
- 3) 十鳥秀樹. 1990. 組織培養技術を利用したアスパラガス全雄系統の育成. 香川農試研成 28 : 42-45
- 4) 上曾山茂. 1992. 根側芽培養によるアスパラガスの増殖. 九州農研 54 : 197
- 5) 甲村浩之・井本征史. 1994. アスパラガスの不定胚形成による簡易で効率的な苗生産法. 広島農技セ研報 60 : 55-63
- 6) 甲村浩之・長久逸・池田好仲. 1991. アスパラガスの不定胚形成による大量増殖 第3報 圃場栽培株若茎からの不定胚形成と植物体再生. 広島農試報 54 : 33-40
- 7) MATSUBARA, S. MASUDA, M. and TAKAHASHI, K. 1989. In vitro rooting of female asparagus derived from apices and lateral bud explants. Sci. Rep. Fac. Agr. Okayama Uni. 74 : 1-5
- 8) 松原幸子・榊田正治・村上賢治・高橋和久・石倉聡. 1991. アスパラガス側芽培養でのアンシミドールによる発根及び多芽体形成. 岡山大農学報 77 : 9-15
- 9) 元木悟. 2002. アスパラガスの改植時におけるアレロパシー軽減技術. 園芸学会アスパラガス研究小集会. 要旨.
- 10) 元木悟・西原英治・北澤裕明・平館俊太郎・藤井義晴・篠原温. 2006. アスパラガス連作障害におけるアレロパシー回避のための活性炭の利用. 園学研 5(4) : 437-442
- 11) 中島寿亀・國武久登・森欣也・田中政信. 1993. 胚様体、苗条原基の利用法の開発 V 胚様体利用によるアスパラガスの大量増殖法の開発. 佐賀農試セ研報 28 : 11-29
- 12) 仁井智己・園田高広・金山貴明・林有子・佐久間秀明. 2008. アスパラガス「はるむらさき」の育成とその特性. 園学雑 7(2) : 183
- 13) 鈴木卓・原田隆・八鍬利郎. 1990. アスパラガス培養体節部組織片の凍結保存後における発根の増大及びシュート成長の促進. 園学雑 66(2) : 294-295
- 14) 鈴木誉子・梅宮徹・菅家文左衛門. 1991. 植物組織培養における培地成分の変化. 園学雑 60(2) : 258-259
- 15) 園田高広. 2006. アスパラガス新品種「ハルキタル」および「春まちグリーン」の育成. 福島農試研報 37 : 11-18
- 16) 園田高広・二瓶直登. 2003. アスパラガス茎頂培養における培地成分の変化. 園学雑 72(2) : 270
- 17) 土屋一成. 1989. アスパラガスにおけるアレロパシー研究の現状. 農業および園芸 64(3) : 373-378
- 18) 浦上敦子・永井信. 1987. アスパラガス組織培養における透明根からの白色根の誘導. 園学雑 56(2) : 258-259
- 19) 渡辺慎一・鈴木卓・原田隆. 1997. アスパラガス培養体節部切片からの発根に及ぼす凍結処理の影響. 園学雑 59(2) : 342-343
- 20) 八鍬利郎・原田隆・飛世昌江. 1984. アスパラガスの形態形成に関する研究 : 第9報 培養茎の茎頂ならびに節部切片の培養における器官形成. 北大農邦文紀 14(2) : 174-186



図1 鱗芽および貯蔵根を形成した '9307' の幼植物



図2 1/2MS培地に移植後、カルスから発生した正常根

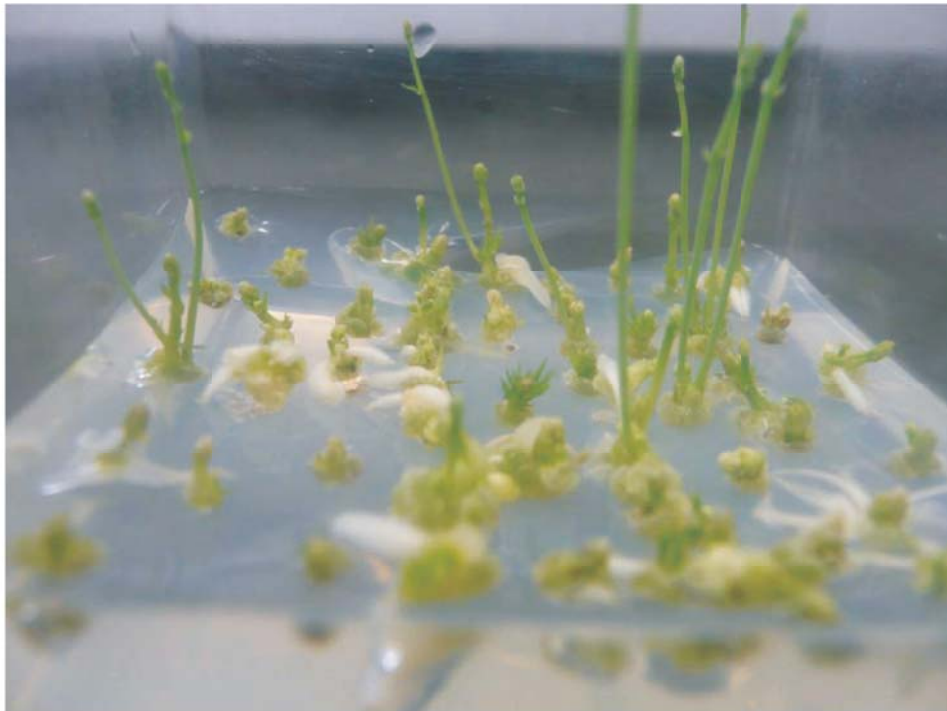


図3 培地上で形成したカルスおよび白色根、透明根



図4 白濁物質が発生した '0120'



図5 根およびシュートの生育が旺盛な幼植物

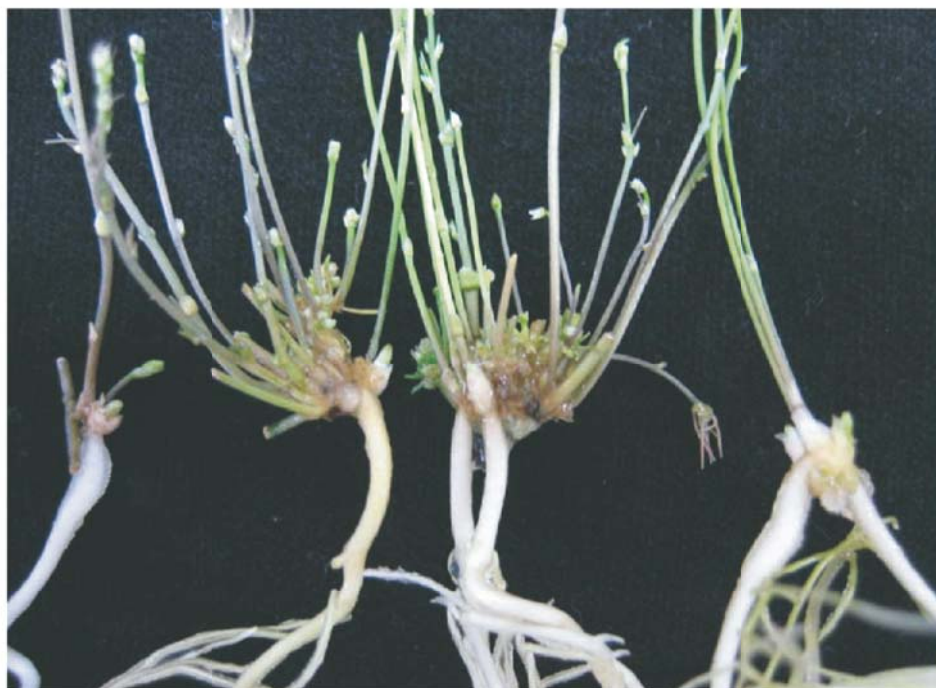


図6 鱗芽および貯蔵根を形成した幼植物



図7 アスパラガスの原種苗