

ニンニクの *in vitro* 培養でのシュート並びに小球形成

藤目幸擴・工藤りか*・奥田延幸**

香川大学農学部

(〒 761-07 香川県木田郡三木町)

*現在：(株) 四国総合研究所

(〒 761-01 高松市屋島西町 2109-8)

**現在：香川県三豊郡農業改良普及所

(〒 769-15 香川県三豊郡豊中町)

(1992年5月26日受付)

(1992年11月2日受理)

ニンニクの小鱗茎あるいは珠芽を供試し、試験管内でのシュート形成と小球形成に及ぼす、供試部位並びに植物生長調節物質の影響を調査した。

茎頂部を用いた場合、BA濃度を高くするほどシュート数は増加した。また、小球形成においては、BA及びNAAともに低濃度で促進され、ホルモンフリーの培地でもっとも促進された。底盤部では、BA濃度を高くするほどシュート形成率は促進される傾向が認められた。小球は2 ppm BA区でのみ形成された。普通葉の下部を用いた場合、BA濃度を高くするほどシュート形成率は促進され、シュート数は他部位より増加した。小球形成はBAあるいはNAAのいずれかを含む処理区においてのみ起こり、NAAの濃度が低いほど小球数は増加した。

以上の結果から、どの供試部位でもBA(1, 2 ppm)は、シュート形成を促進すると考えられ、NAA(0, 1, 2 ppm)は、低濃度ほど小球形成を促進すると思われた。

1. 緒言

現在栽培されているニンニクは、そのほとんどがウィルスに感染しており、球の肥大が悪くまた小球や裂球の割合が多い¹⁾。ニンニクは栄養繁殖法により増殖されているため、ウィルスの伝染を防げず、また母球の選択が悪ければ品質低下や減収となる。そのため、ウィルスに感染していない母球を獲得することが品質向上、更には増収のために必要となってくる。

ニンニクは小鱗茎を用いて栄養繁殖されているが、増殖の効率が非常に悪く、1個の小鱗茎からせいぜい8~10個の小鱗茎にしか増加しない。通常、ニンニクの無病苗の育成には、1個の小鱗茎の頂端分裂組織から1

本の無病苗を育成する方法が調べられている²⁾。しかしこの方法では増殖効率が非常に悪いため、頂端分裂組織以外の部位から不定芽形成を誘導し、1個の小鱗茎からいかに大量の無病苗を効率良く作出するかが重要となってくる。

また、ニンニクの培養苗を圃場で栽培した際、球形成と肥大が起こりにくいことが報告されている³⁾。そこで無病苗を育成する際、試験管内での球形成の性質についても検討しておく必要がある。

本実験では、*in vitro*でのニンニクの無病苗の大量増殖を目的として、シュートと小球形成に適した供試部位の比較検討と、培地に添加する植物生長調節物質の影響を調べた。

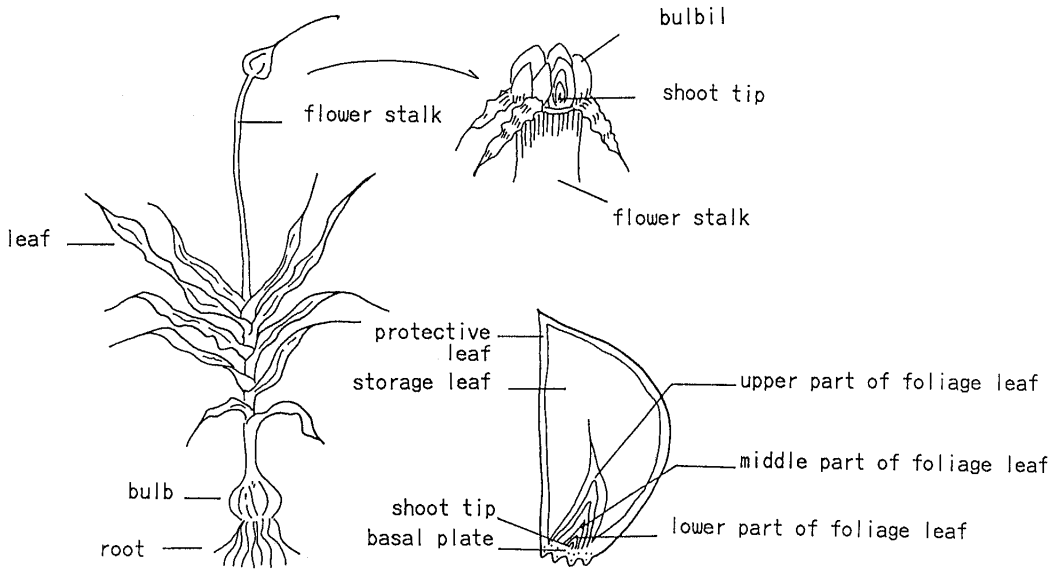


Fig. 1 Schematic representation of the explant portion in garlic.

2. 材料および方法

供試材料には、‘平戸’と‘太倉’の5部位(小鱗茎の茎頂部、底盤部、普通葉の下部、中部、上部)と、中国在来系統の‘C-1’と‘C-2’の2部位(珠芽、小鱗茎の茎頂部)を用い、供試部位を Fig. 1 に示した。基本培地としては、Murashige and Skoog (MS) 培地 (1962) の基本組成に、サッカロース 3%、寒天 0.9% を加え、pH を 5.75 に調整して用いた。なお、供試材料には収穫後 5°C の冷蔵庫で‘平戸’は1年間、‘太倉’は6ヵ月間貯蔵した球を用いた。

培地量は、試験管 (25×150 mm) あたり 10 ml ずつを分注した。培養条件は、ファイトロン内での人工照明室で 23°C・16 時間日長 (植物育成用蛍光灯, 2,500 lx) とした。また必要に応じて同一条件のグロースキャビネットを用いた。

鱗茎を小鱗茎に分けて保護葉を取り去った後、70% エチルアルコールで5分間、7.5% 次亜塩素酸ナトリウムで3分間殺菌し、その後滅菌水で3回洗浄した。NAA と BA をそれぞれ 0, 1, 2 ppm の濃度で組み合わせた9処理区を設けた (Table 1)。置床組織の大きさは、茎頂部では葉原基2枚を含む直径 0.1~0.2 mm、他の供試部位ではすべて 0.3×0.3×0.1 cm とした。それぞれの培地に所定の大きさの外植体を、‘平戸’は1989年4月10日、‘C-1’と‘C-2’は6月9日、‘太倉’は10月3日に置床した。培養期間は100日とし、継代培養は置床70日後に行った。なお、‘C-1’と‘C-2’については外

Table 1. Combinations of plant growth regulators.

Plot	BA (ppm)	NAA (ppm)
A	0	0
B	0	1
C	0	2
D	1	0
E	1	1
F	1	2
G	2	0
H	2	1
I	2	2

植体数の都合上、0, 1, 2 ppm NAA と 0, 1 ppm BA の濃度で組み合わせた6処理区の培地に置床した。各処理区には1区あたり10試験管を用い、1試験管あたり1外植体を置床した。

調査項目として平均シュート数、シュート形成率、小球数、小球形成率、平均総葉数、平均最大葉長、平均発根数、発根率、平均最大根長、カルス形成率を10日おきに調査し、また写真撮影による記録を2週間おきに行った。なお、平均シュート数、平均総葉数、平均発根数はそれぞれの器官が形成された植体数の平均とした。

3. 結果

茎頂部、珠芽、底盤部、普通葉下部を置床した場合、供試した品種間で共通して器官形成が多くなる傾向が認められた。また、普通葉については上部を置床するほど器官形成率が低くなる傾向が示された。そこで、以下に

Table 2. Effects of plant growth regulators on organ formation from shoot tip explants.

Plot	Number of Shoots* ¹	Number of Bulblets* ²	Number of Roots* ³	Callus formation* ⁴ (%)
A	1.1	10	3.5	0
B	1.0	9	10.4	100
C	1.0	8	9.8	90
D	1.9	7	0	0
E	2.9	1	1.0	100
F	2.2	0	5.7	80
G	3.1	0	0	70
H	2.4	0	1.0	100
I	2.7	0	2.0	100

(‘Taiso’, 70 days after explanting)

*1 Total number of shoots/number of explants with shoots.

*2 Total number of bulblets in plot.

*3 Total number of roots/number of explants with roots.

*4 (Total number of explants forming callus/number of explants cultured) × 100

は‘太倉’の結果について示した。

‘太倉’の茎頂部からの器官形成並びにその生育に及ぼす植物生長調節物質の影響を **Table 2** に、またそれぞれの器官形成率についての結果を **Fig. 2** に示した。

茎頂部を置床した場合、全処理区において置床後 10 日から 40 日目の間にシュート形成率は 100% に達した。植物生長調節物質を添加しなかった A 区、NAA のみを添加した B 区と C 区では、シュートは形成されたがシュート数は少なかった。NAA と BA を組み合わせた区においては、シュート数は多くなった。

茎頂部を用いた場合、植物生長調節物質を添加しなかった A 区、NAA のみを添加した B 区と C 区では小球

形成が著しく、また形成された小球数も多くなった。また BA のみを 1 ppm 添加した D 区でも小球は 7 個形成された。 **Fig. 3** にシュートの基部が肥大して形成された小球を示した。

‘太倉’の底盤部からの器官形成並びにその生育に及ぼす植物生長調節物質の影響を **Table 3** に、またそれぞれの器官形成率についての結果を **Fig. 4** に示した。

底盤部を置床した場合、BA の濃度を高くするほどシュート形成は増加する傾向が認められたが、NAA と BA の組み合わせに一定の傾向は見られなかった。BA のみを 2 ppm 添加した G 区では、小球の形成率は 20% であったが、8 個の小球を形成した外植体が認められた

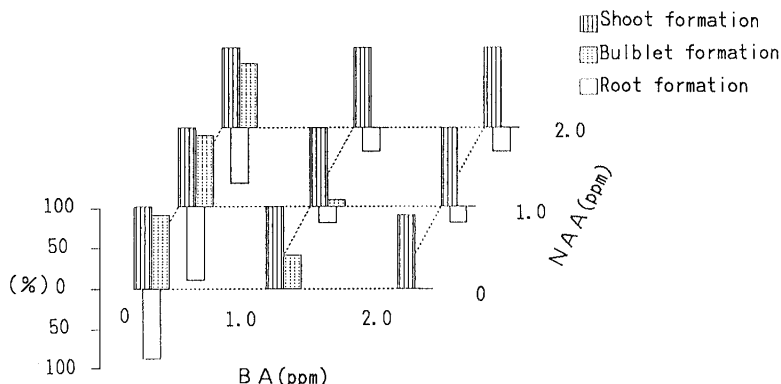


Fig. 2 Organ formation* from shoot tip explants.
(‘Taiso’, 70 days after explanting)

* (Total number of explants forming shoots, bulblets or roots/number of explants cultured) × 100

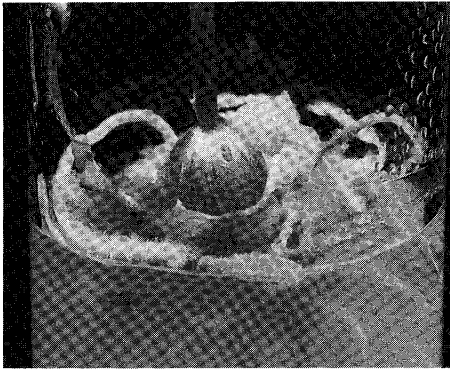


Fig. 3 Bulblet formed from shoot tip explants. (Plot C, 'Taiso', 70 days after explanting)

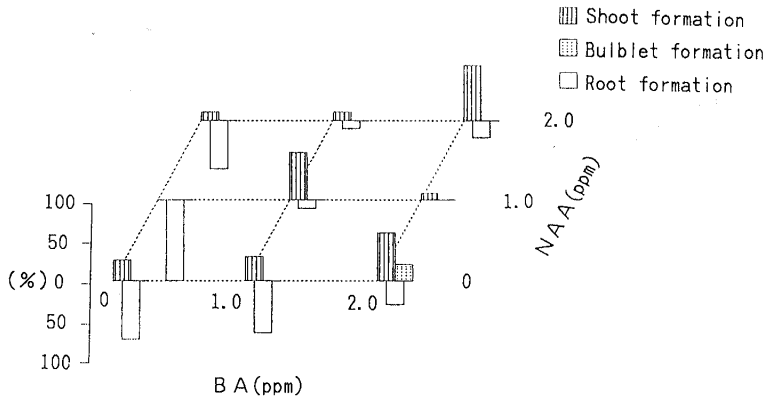


Fig. 4 Organ formation from basal plate explants. ('Taiso', 70 days after explanting)

(Fig. 5).

'太倉'の普通葉下部からの器官形成並びにその生育に及ぼす植物生長調節物質の影響を Table 4 に、またそれぞれの器官形成率についての結果を Fig. 6 に示した。植物生長調節物質を添加しなかった A 区, NAA のみ添加した B 区と C 区では、シュート数は少なかった。NAA と BA を高濃度で組み合わせた区では、シュート形成率とシュート数は増加した。また、1 ppm BA のみを添加した区ではシュート数は多くなり、NAA を更に添加すると、シュート数はやや減少した。BA を 2 ppm 添加した場合には、NAA と組み合わせた方がシュート数は顕著に増加したが、小球はほとんど形成されなかった (Fig. 7)。

'C-1'の珠芽の茎頂からの器官形成並びにその生育に及ぼす植物生長調節物質の影響を Table 5 に、また、そ

れぞれの器官形成率についての結果を Fig. 8 に示した。NAA のみを添加した B 区と C 区, BA を 1 ppm と NAA を 2 ppm 添加した F 区では、置床 10 日から 50 日後の間にシュート形成率は 100% となった。BA と NAA を組み合わせて添加した F 区では、シュートの形成数は増加した。

発根については、NAA を添加することによって促進され、BA を添加することによって抑制される傾向が、全供試部位について認められた。

カルス形成については、全ての品種の全供試部位において NAA 濃度が高い程形成率が高くなる傾向が認められたが、カルスの量的な増加は認められなかった。

4. 考 察

ニンニクのシュート並びに小球形成について、処理区に対する品種間差は多少認められたが、植物生長調節物



Fig. 5 Eight bulblets formed from basal plate explants. (Plot G, 'Taiso', 70 days after explanting)

Table 3. Effects of plant growth regulators on organ formation from basal plate explants.

Plot	Number of* ¹ Shoots	Number of* ² Bulblets	Number of* ³ Roots	Callus formation** ⁴ (%)
A	2.0	0	3.2	100
B	0	0	7.2	100
C	3.0	0	7.0	100
D	1.0	0	2.8	100
E	1.5	0	10.0	100
F	2.0	0	10.0	100
G	2.7	11	2.3	100
H	4.0	0	0	100
I	1.7	0	1.5	100

(‘Taiso’, 70 days after explanting)

*1 Total number of shoots/number of explants with shoots.

*2 Total number of bulblets in plot.

*3 Total number of roots/number of explants with roots.

*4 (Total number of explants forming callus/number of explants cultured) × 100

Table 4. Effects of plant growth regulators on organ formation from lower part explants of foliage leaves.

Plot	Number of* ¹ Shoots	Number of* ² Bulblets	Number of* ³ Roots	Callus formation** ⁴ (%)
A	1.0	10	2.0	10
B	1.0	3	17.8	90
C	2.0	1	15.0	100
D	4.2	4	1.0	90
E	2.8	0	10.0	100
F	2.8	0	10.0	100
G	2.4	2	0	100
H	5.6	0	10.0	100
I	6.8	0	0	100

(‘Taiso’, 70 days after explanting)

*1 Total number of shoots/number of explants with shoots.

*2 Total number of bulblets in plot.

*3 Total number of roots/number of explants with roots.

*4 (Total number of explants forming callus/number of explants cultured) × 100

質の影響に一定の傾向が認められた。

シュート形成について茎頂部では、BA を高くするほどシュート形成は促進され、NAA については一定の傾向はみられなかった。底盤部と普通葉下部でも BA 濃度を高くするほどシュート形成は促進された。

松原・陳³⁾も茎頂組織を培養し、0.01 mg/l の BA と NAA はシュート形成を促進したと報告している。また、松原ら⁴⁾は‘嘉定’の底盤組織の不定芽形成に、NAA 0.1 mg/l の添加が適当であると報告している。本実験で用

いた‘太倉’の底盤組織では 2 ppm の BA でシュート形成は促進された。大澤ら⁵⁾は、茎頂組織を用いた場合、 10^{-5} M BA の添加でカルス形成は促進されたと報告しているが、本実験では 1~2 ppm BA の添加でカルス形成は認められたが、カルスの量的増加はほとんど認められず、シュート形成が促進された。これらの結果にみられる植物生長調節物質に対する反応の相違は、内生ホルモンレベルの品種間差または供試部位間の差によるものと考えられる。

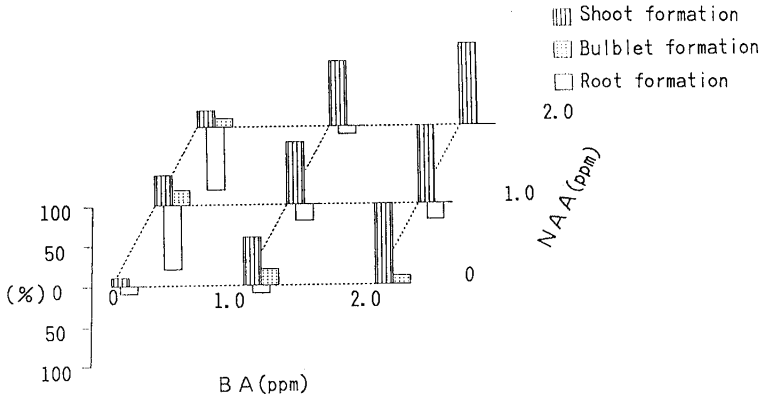


Fig. 6 Organ formation from lower part explants of foliage leaves. ('Taiso', 70 days after explanting)

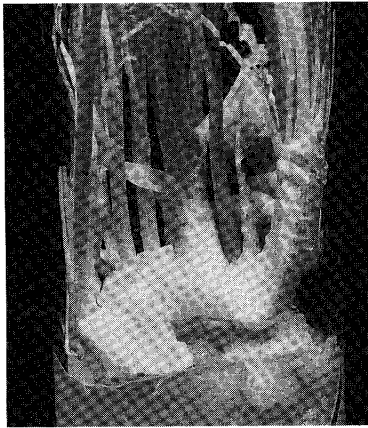


Fig. 7 Shoots formed from lower part explants of foliage leaves. (Plot H, 'Taiso', 70 days after explanting)

また、小球形成について茎頂部では、BAとNAAが低濃度ほど小球形成は促進された。高樹⁶⁾は、1 mg/l NAAはニンニクの芽の球形成とその幼植物体の生長を促進すると報告しており、本実験でもほぼ同様の傾向が認められた。更に、本実験では1 ppm BAを添加することで小球数は増加する傾向が確認された。底盤部を用いた場合、小球は2 ppm BA区でのみ形成されたが、形成率は低かった。しかし、1外植体あたりの小球形成数は最大となった。普通葉下部を用いた場合、小球形成の傾向は茎頂部の場合とほぼ同様で、1~2 ppm BAを添加すると小球数が増加する傾向が認められた。

また、試験管内での小球形成の培養条件について長久保ら⁷⁾は、25°C・16時間日長で小球形成は誘導されると

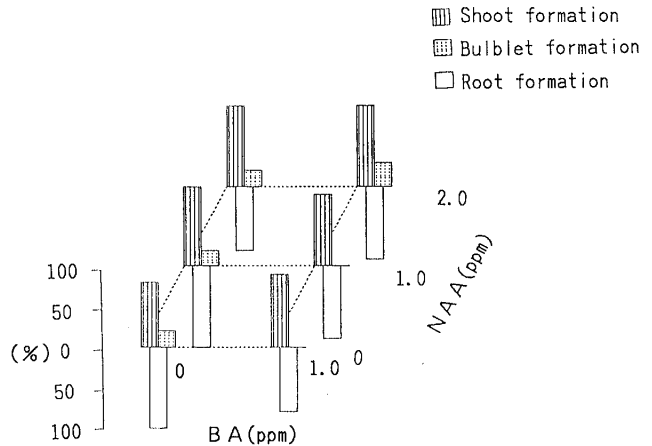


Fig. 8 Organ formation from shoot tip explants of bulbils. ('C-1', 70 days after explanting)

報告している。しかし、本実験では小鱗茎を5°Cで数カ月貯蔵した後、21~23°Cで培養して多数の小球が形成されている。本実験の結果と高樹⁶⁾の結果からも、このように多数の小球が形成されたのは、培養条件に加えて供試材料が十分な低温刺激を受けていたため小球形成が促進されたと考えられる。高樹⁶⁾も低温処理が、その後の球形成を促進すると報告している。

小球形成に及ぼす供試部位の影響について、茎頂部、底盤部、普通葉下部、珠芽の茎頂部では小球形成がみられたが、一つの外植体からより多くの小球が形成されるのは底盤部と思われる。短縮茎である底盤部には多数の腋芽が集まっており、この切片が培養されることにより多数の芽の発育が促進され、小球が形成されたと思われ

Table 5. Effects of plant growth regulators on organ formation from shoot tip explants of bulbils.

Plot	Number of* ¹ Shoots	Number of* ² Bulblets	Number of* ³ Roots	Callus formation* ⁴ (%)
A	1.4	2	4.3	0
B	1.0	2	11.5	0
C	1.2	2	13.8	10
D	1.0	0	3.8	0
E	1.4	0	8.7	0
F	2.5	3	12.7	20

(‘C-1’, 70 days after explanting)

*1 Total number of shoots/number of explants with shoots.

*2 Total number of bulblets in plot.

*3 Total number of roots/number of explants with roots.

*4 (Total number of explants forming callus/number of explants cultured) × 100

る。

ニンニクの無病苗の育成に珠芽を用いた報告^{4,8)}はあるが、珠芽の茎頂部を用いた報告はない。松原ら³⁾は分割した花床を用いて植物体を獲得し、薛ら⁸⁾は花床部からカルスを形成し、個体を再生させている。本実験では‘C-1’と‘C-2’の珠芽の茎頂部を置床し、他の供試部位とほぼ同じ結果を得た。珠芽の茎頂部は小鱗茎と比べて切り取りやすく、一つの頭球から多数の茎頂部を採取できるため、珠芽はニンニクの大量増殖に有効な供試部位と思われる。

以上の結果から、ニンニクのシュート並びに小球形成に適している供試部位は、小鱗茎の茎頂部、底盤部、普通葉下部、珠芽の茎頂部と思われる。また、BAはシュ

ート形成を促進すると考えられた。

文 献

- 1) 森 憲昭, 1989. 長崎総農試報(農), 17: 1-21.
- 2) Bhojhani, S. S., 1980. Sci. Hort., 13: 47-52.
- 3) 松原幸子, 陳 典, 1986. 園学要旨, 昭61春: 168-169.
- 4) 松原幸子, 陳 典, 梶田正治, 1990. 岡山大学農学報, 75: 9-13.
- 5) 大澤勝次, 栗山尚志, 菅原祐幸, 1981. 野菜試報A, 9: 1-46.
- 6) 高樹英明, 1990. 山形大紀要(農学), 11: 187-200.
- 7) 長久保有之, 長沢秋都, 村中俊哉, 大川秀郎, 1987. 第10回植物組織培養シンポジウム講演要旨集: 95.
- 8) 薛 惠民, 荒木 肇, 八鍬利郎, 1989. 園学雑, 58: 218-219.

Summary

In vitro Formation of Shoot and Bulblet in Garlic

Yukihiro FUJIME, Rika KUDOU* and Nobuyuki OKUDA**

Department of Horticulture, Kagawa University,

Miki-cho, Kagawa, 761-07 Japan

**Shikoku Reserch Inst. Inc., Yashima,*

Takamatsu City, Kagawa, 761-01 Japan

***Kagawa Mitoyo Agr. Ext. Office,*

Toyonaka-cho, Kagawa, 769-15 Japan

The effect of sampling positions and plant growth regulators on shoot and bulblet formation *in vitro* was

investigated, using bulbs or bulbils of garlic plant, *Allium sativum* L.

When shoot tips were explanted, the number of shoots formed increased in higher benzyladenine (BA) concentrations. Bulblet formation increased in either low BA or naphthalene-acetic acid (NAA) concentrations, and increased most in hormone free medium. When basal plates were explanted, the higher the concentrations of BA, the more shoot formation tended to be promoted. When the lower parts of the foliage leaves were explanted, the higher the concentrations of BA, the more shoot formation was promoted. The number of shoots formed increased more than for any other sampling position. Bulblet formation occurred in the plots that contained either BA or NAA.